Beitrag zur Kenntnis

von

Karkade und ihrer Inhaltsstoffe

Inauguraldissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

RUDOLF BRAND
Apotheker
aus BASEL

Basel 1942
Buchdruckerei Wilh. Mollinet

Beitrag zur Kenntnis

von

Karkade und ihrer Inhaltsstoffe

Inauguraldissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

RUDOLF BRAND

Apotheker

aus BASEL

Basel 1942

Buchdruckerei Wilh. Mollinet

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der

Herren Professoren

Dr. *K. Leupin* und Dr. *T. Reichstein.*

Basel, den 19. Dezember 1941.

Prof. Dr. W. Kuhn
Dekan

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde in der Pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel ausgeführt. Ich möchte auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. K. Leupin,

für die wohlwollende Unterstützung und Förderung meiner Arbeit den herzlichsten Dank aussprechen.

Meiner Mutter gewidmet.

I. Einleitung.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit einer Droge, die bei uns in neuerer Zeit unter den verschiedenartigsten Bezeichnungen in den Handel gebracht wird.

In der Schweiz ist *„Karkade"* oder *„Karkade-Tee"* der gebräuchlichste Name. Von Droguerien und Kräuterhäusern wird die Droge auch als *„Rubin-Trank"* angepriesen. Nach *Diepenbrock*[1]) ist sie in Mexico als *„Jamaica"* bekannt. Im englischen Sprachgebiet treffen wir die Bezeichnung *„Rossel"* oder *„Red Sorrel"*. Weniger geschätzt wird die ebenfalls im Handel befindliche Varietät *„White Sorrel"*, deren Kelchblätter eine grünlich-weisse Farbe besitzen. Auch als *„Jericho-Rose"* soll nach *Griebel*[2]) die Droge als Heilmittel gegen Herz- und Nervenleiden, gegen zu hohen Blutdruck und gegen Arterienverkalkung angepriesen worden sein. Unter Jericho-Rose versteht man aber gewöhnlich das getrocknete Gezweige der palästinensischen *Anastatica hierochuntica L.*[3]) Bei uns wird diese echte Jericho-Rose auf den Weihnachtsmärkten als Zimmerschmuck feilgeboten. Im Altertum soll sie sogar als Orakelpflanze von Hebammen benützt worden sein.[3]) Diepenbrock nennt Karkade auch *Calyx Hibisci Sabdariffa.* Diese Bezeichnung ist richtig. Denn obschon die Droge auf den ersten Blick den Eindruck einer Blütendroge erweckt, was aus den unrichtigen Namen „Hibiscus-Blüten" und „Flores Sabdariffa"[4]) hervorgeht, handelt es sich bei unserer Droge um einen Blütenkelch.

Karkade stammt von der tropischen Pflanze *Hibiscus Sabdariffa L.* = Sabdariffa rubra Kostel-Sida Sabdariffa L.[5]) aus der Familie der Malvaceen. Es handelt sich um eine einjährige Staude, die je nach Kulturbedingungen bis zu 5 m hoch werden kann.[6])

Die Pflanze ist unten meist kahl, oben trägt sie gelappte Laubblätter und achselständige Blüten. Die grossen Kronblätter sind gelb gefärbt und am Grunde braun gefleckt. Man unterscheidet zwei Kelche, die am Grunde miteinander verwachsen sind. Einen borstigen, zehnnervigen, oberhalb der Mitte fünflappigen Innenkelch und einen Aussenkelch aus schmal-linealen, steifborstigen Blättchen. Der Innenkelch ist etwa dreimal grösser als die Blättchen des Aussenkelches. Beide Kelche erhalten erst nach dem Verblühen ihre rote Farbe. Sie werden fleischig und liefern nach dem Trocknen die von uns untersuchte Droge.[7])

Karkade hat einen stark sauren, angenehmen Geschmack und wird zur Herstellung von Limonaden, Gelees und andern erfrischenden Speisen benützt[8]).

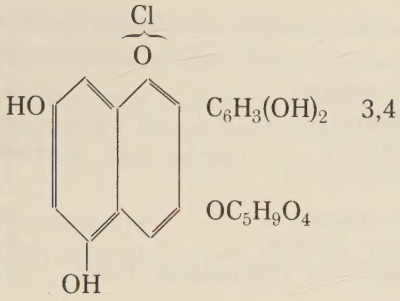
Die Karkadestaude stammt wahrscheinlich aus dem malayischen Archipel und kultiviert wird sie in allen tropischen Ländern. So in Ost- und Westindien[9]), im tropischen Afrika, auf Java, Sumatra, Malakka, auf Ceylon und in Sizilien. Wegen der starken Fasern, die den *„Rosella-Hanf"* oder *„Roselle-Hemp"* liefern, wird Hibiscus Sabdariffa (auch Rosella-Eibisch genannt) vor allem in der Präsidentschaft Madras in Ostindien angebaut[10]). Die Laubblätter der Pflanze können als Salat genossen werden. Die Wurzeln sollen viel Weinsäure enthalten[11]) und deshalb als Purgans Verwendung finden. Nach *Jumelle*[12]) werden die Blätter an einigen Orten auch als Koagulationsmittel für Kautschuk benützt. Auch die Samen von Hibiscus Sabdariffa werden als Nahrungsmittel gebraucht, und zwar geröstet, ähnlich wie die des Sesams[13]).

Die ältern Literaturangaben geben uns keinerlei Aufschluss über die Inhaltsstoffe unserer Droge. Erst aus neuerer Zeit finden wir Arbeiten, die sich mit dem Farbstoff von Karkade befassen. Hauptsächlich zwei Arbeiten sind zu erwähnen. Von *Perkin Arthur George* lesen wir über „die Farbstoffe der Blüten (gemeint sind die Kelche) von Hibiscus Sabdariffa:"[14])

„Dem wässerigen Extrakt der Blüten von Hibiscus Sabdariffa entzieht Aether nach dem Digerieren mit verd. Schwefelsäure ein Gemisch von Farbstoffen, dessen wichtigster Anteil das Gossypetin (Journ. chem. soc. London 75, 825. C. 99 II. 624) ist. Die diesem früher zugeschriebene Formel $C_{16}H_{12}O_8$ muss durch $C_{15}H_{10}O_8$ ersetzt werden. Es bildet gelbliche Nadeln, die bei 295—300° zu schmelzen scheinen. Die orange-rote Lösung in konz. Alkali wird beim Verdünnen mit Wasser grün und schliesslich braun. Sie färbt alkohol. Fe Cl_3 tief olivgrün. Beim Schmelzen mit Alkali entsteht Protocatechusäure. Hexaacetylderivat $C_{27}H_{22}O_{14} = C_{15}H_4O_8$ $(C_2H_3O)_6$ Kristalle aus Eg. und A., Smp. = 229—230°. Ausser Gossypetin und Quercitin wurde ein neuer Farbstoff Hibiscetin, gelbliche Blättchen, isoliert. Freie Protocatechusäure wurde ebenfalls beobachtet".

Auch *Ryo Yamamoto* und *Yasnyosi Osima* haben sich in einer Arbeit: „Ueber den roten Farbstoff von Hibiscus Sabdariffa L."[15]) mit dem Karkade-Farbstoff befasst.

Die Verfasser haben festgestellt, dass in dem tiefroten Kelch der Früchte genannter Pflanzen, ausser dem von *Perkin* entdeckten und von *Robinson* und Mitarbeiter (C. 1929, I. 2188) synthetisierten gelben Farbstoff Gossypetin, noch ein rotes Anthocyanin vorkommt. Das isolierte Anthocyaninchlorid besitzt wasserfrei die Zusammensetzung $C_{20}H_{19}O_{10}Cl$ und wahrscheinlich nebenstehende Konstitutionsformel,



denn es wird hydrolytisch in Cyanidinchlorid und eine Pentose gespalten, deren Natur noch nicht ermittelt werden konnte. Die Verfasser bezeichnen dieses neue Anthocyanin als *Hiviscin*.

Der überaus stark saure Geschmack der getrockneten Hibiscuskelche hat dazu geführt, die Droge auch auf ihre sauren Inhaltsstoffe hin zu untersuchen.

So treffen wir in der Literatur verschiedene Angaben über diejenigen Stoffe, die der Droge diesen sauren Geschmack verleihen. Und da Karkade im Handel als durststillendes Getränk angepriesen wird, haben sich hauptsächlich Lebensmittelchemiker mit der Analyse dieser Droge befasst. Wir entnehmen einer Arbeit von *Pritzker* und *Jungkunz*:[16]) „dass der Karkade-Tee-Auszug im Grunde genommen nichts anderes ist, als eine dunkelrote Lösung von reichlich Aepfelsäure, neben etwas Gerbstoff, Pektin und Invertzucker. Andere Säuren kommen in nennenswerten Mengen nicht in Frage."

Die Autoren haben neben allgemeinen Prüfungen das Hauptgewicht auf die Untersuchung des wässerigen Auszuges gelegt, der ja auch die angepriesenen Wirkungen enthalten soll. Die Analyse des 5 %igen wässerigen Auszuges wurde nach dem neuen schweizerischen Lebensmittelbuche (1937), Kapitel „Tee", vorgenommen. Wir entnehmen der Arbeit folgende Untersuchungsergebnisse:

Wässeriger Extrakt . .	61,4 %
Invertzucker	5,9 %
Pektin	9,3 %
Mineralstoffe	8,31 %
Rohrzucker	—
Koffein	—
Aussehen	dunkelweinrot
Sinnenprüfung . . .	stark sauer

Bilanz der freien organischen Säuren.

Gesamtsäure als Aepfelsäure berechnet 17,2 %

direkt ermittelt:

Aepfelsäure	7,9 %	
Bernsteinsäure	0,3 %	
Weinsäure	—	
Milchsäure	1,6 %	
Gerbsäure	4,2 %	14,0 %
Zitronensäure	Spuren	
Flüchtige Säuren	Spuren	
Oxalsäure in gebundener Form	2,1 %	

Die Differenz von 3,2 % zwischen der als Aepfelsäure berechneten Gesamtsäuremenge und der Summe der direkt bestimmten Säuren wollen die Verfasser damit erklären, dass der alkalibindende Farbstoff, der sich wie ein Indikator verhält, daran beteiligt sei. Auch könnten Verbindungen, die bei der Hydrolyse der Pektinstoffe entstehen, bei der Gesamtsäurebestimmung eine Rolle spielen.

In einer ausführlichen Arbeit aus dem Jahre 1937 geben uns *Buogo Giulio* und *Picchinenna Domenico*[17]) weitere Angaben über die Inhaltstoffe der Droge. Die zusammengefassten Analysenresultate sind folgende:

Wasser	13,28 %
Wässeriger Extrakt	60,25 %
Asche	8,532 %
P_2O_5	0,235 %
Mangan	0,226 %
NH_3	0,156 %
Org. Stickstoff	0,698 %
Red. Zucker	9,084 %
Rohrzucker	—
Zitronensäure	10,552 %
Aepfelsäure	3,546 %
Weinsäure	—
Oxalsäure	—
Gallussäure	—
Koffein und Theobromin	—
Vitamin C	80 mg %

Nach dieser Arbeit soll der saure Geschmack des Karkadeauszuges auf der Anwesenheit von reichlich viel Zitronensäure beruhen. Auch soll Karkade einen Gehalt an Vitamin C aufweisen.

Aehnliche Resultate entnehmen wir der von *Renato Indovina* und *Giuseppe Capotummino* (1939) veröffentlichten Arbeit[18]) über:

Chem. Analyse des Karkade aus Hibiscus Sabdariffa L. Sizilianische Kultur (Palermo).

Die Verfasser geben eine Uebersicht über die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen der Droge und vergleichen ihre Resultate aus sizilianischem Karkade mit solchen aus Eritrea und aus dem Somaliland.

Aschenanalyse (qualitativ):

Ca, Al, Fe, Mg, (Spuren) Na, (unwägbare Mengen) K, Cl, Phosphat, Nitrat, Sulfat.

Die Kulturen aus Eritrea und Somaliland enthalten Mn.
Die Sizilianische Droge Cr.

Analyse des Dekoktes:

(Werte auf 100 g getrocknete Droge bezogen)

	Eritrea	Somali	Palermo	
			Rosso	Rosso scuro
Total Stickstoff . . .	0,9394	0,9374	1,635	1,3408
Red. Zucker	7,616	9,734	7,424	9,334
Totalacidität (auf Zitronensäure bezogen) .	15,437	18,934	15,162	19,24
Zitronensäure	12,447	16,75	13,102	15,72
Aepfelsäure	3,125	2,284	2,154	3,15
Weinsäure	—	—	Spuren	
Oxalsäure	—	—	—	—
andere org. Säuren . . .	—	—	—	—

Die Säuren sind nach der Bleifällungsmethode nach *Halmke* und *Möslinger* bestimmt worden.

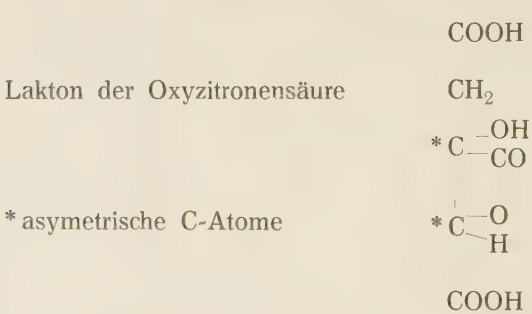
Die Prüfung auf Vitamin C hat ein negatives Resultat ergeben.

Auch nach diesen Untersuchungen soll der Hauptbestandteil der Droge Zitronensäure sein. Der Gehalt der gefundenen Stoffe variiert je nach Art und Herkunft.

In den Mitteilungen aus der Preussischen Landesanstalt für Lebensmittel, Arzneimittel und gerichtlicher Chemie in Berlin-Charlottenburg ist von *C. Griebel* (1939)[19]) eine Arbeit veröffentlicht worden, die sich ebenfalls mit Karkade befasst. Diese Publikation kam uns zu Gesicht, als unsere Untersuchungen schon weit vorgeschritten waren.

Griebel kommt bei der Prüfung der Frage, welche Stoffe den sauren Geschmack der Droge hervorrufen, zu Ergebnissen, die von den früher veröffentlichten erheblich abweichen. Er hat aus dem alkoholischen Drogenauszug eine Substanz isoliert, die mit keiner der bekannten Fruchtsäuren identisch ist. Es handelt sich um eine Dicarbonsäure mit dem Molekulargewicht 190. Die Analyse dieser Substanz ergab die Bruttoformel $C_6H_6O_7$. Der Schmelzpunkt der wasserfreien, über Schwefelsäure getrockneten Säure soll bei 181—183° liegen.

Die in strahligen Massen auskristallisierende Säure ist sehr leicht in Wasser und leicht in Alkohol löslich. In 100 g Aether lösen sich bei 20° 3,7 g Säure. Die 5 %ige wässerige Lösung gibt eine Drehung von +11°. Beim Vergleich mit den bekannten Fruchtsäuren, Aepfel-, Zitronen- und Weinsäure, lassen sich mit verschiedenen Reagentien gewisse Uebereinstimmungen und Verschiedenheiten erkennen, die darauf schliessen lassen, dass die Säure wohl Fruchtsäurecharakter hat, aber doch als ein bisher unbekannter Stoff angesprochen werden muss. Griebel nennt sie nach der Stammpflanze der Droge *Hibiscussäure*. Wir entnehmen dieser Arbeit, dass es sich um ein Lacton der Oxyzitronensäure handeln kann. Die optische Aktivität der Säure wäre somit erklärt. Auch würde dies mit der Beobachtung übereinstimmen, dass eine wässerige Lösung, die mit n-Lauge bis zur Rotfärbung von Phenolphthalein titriert ist, beim Erwärmen auf dem Wasserbade wieder entfärbt wird und bis zur Rötung der Flüssigkeit nochmals erhebliche Alkalimengen bindet. Die Strukturformel der Hibiscussäure ist nach Griebel folgendermassen zu verstehen:



Aus der Droge ist auf präparativem Wege über das Bleisalz 13,6 % Hibiscussäure gewonnen worden.

Neben dieser Säure hat Griebel auch Aepfelsäure nachgewiesen. Bei der titrimetrischen Bestimmung, die rund 23 % wasserfreie Hibiscussäure ergibt, ist deshalb noch die Anwesenheit der Aepfelsäure und der alkalibindende rote Farbstoff der Droge zu berücksichtigen. Freie Oxalsäure, Zitronensäure und Weinsäure konnten nicht nachgewiesen werden.

Von gut kristallisierbaren Verbindungen der Hibiscussäure hat Griebel das neutrale Bleisalz, das neutrale Chininsalz und den neutralen Phenacylester dargestellt und untersucht. Bei der Prüfung auf den Vitamin C-gehalt der Droge kommt Griebel zum Schluss, dass es sich um einen der verhältnismässig seltenen Fälle handeln muss, in denen die Titration nach *Tillmanns* zu einem Fehlergebnis führt. Die untersuchte Probe zeigte einen Verbrauch von Dichlorphenolindophenol, dem 80 mg % Ascorbinsäure entsprechen. Dagegen konnten

aus einem mit Jodlösung oxydierten Auszug mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin nur Spuren Dehydroascorbinsäure-hydrazon abgeschieden werden. Aus einer Arbeit von *Giovanni Lorenzini*[20]) kann man auch entnehmen, dass in biologischen Versuchen keinerlei antiscorbutische Wirkung festgestellt werden konnte.

Es sind noch zwei Arbeiten über Karkade zu erwähnen, die sich aber hauptsächlich mit dem botanischen Teil der Droge befassen. *Leupin*[21]) und *Diepenbrock*[22]) haben in ziemlich übereinstimmenderweise die Morphologie und Anatomie studiert und beschrieben.

Wenn wir nun die bestehenden chemischen Arbeiten über die Inhaltstoffe von Karkade miteinander vergleichen, so können wir feststellen, dass die Resultate dieser Untersuchungen sehr voneinander abweichen. Es schien uns deshalb angebracht, die Karkadedroge einer systematischen Analyse zu unterwerfen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass kleine Abweichungen durch Kultur und Herkunft bedingt sein können. Die von uns bearbeitete Droge ist uns von der Firma Siegfried A.-G. Zofingen zur Verfügung gestellt worden und stammt nach den Angaben dieser Firma aus Aegypten.

II. Botanischer Teil.

Ueber die Morphologie und Anatomie der Droge entnehmen wir den zwei ausführlichen Arbeiten von *Leupin*[21]) und von *Diepenbrock*[22]) folgende Angaben:

Das Untersuchungsmaterial besteht hauptsächlich aus den getrockneten Kelchen nebst Hüllkelchen von Hibiscus Sabdariffa L. Ausserdem sind noch einige Fruchtkapseln beigemischt, die jedoch nur als gelegentliche Verunreinigungen zu betrachten sind und deshalb auch nicht näher untersucht wurden.

Es fällt aber auf, dass die mit diesen Früchten verwachsenen Kelchblätter kleiner und dünner sind als die übrigen. Dadurch bestätigt sich die Angabe, dass die Kelche sich nach der Fruchtreife weiterentwickeln, also grösser und fleischiger werden.

Karkade besteht aus fünf Kelchblättern (nach Leupin Innenkelch genannt) und zehn Hüllkelchblättern (Aussenkelch), die alle unter sich und miteinander verwachsen sind. Die getrockneten, stark geschrumpften und nach innen gerollten Innenkelchblätter sind etwa 2—3 cm lang, während die wie kleine Hörner erscheinenden Hüllblätter des Aussenkelches nur etwa 1 cm messen. Die Trennungsstelle der Kelchblätter vom Blütenboden hat in der getrockneten Droge die Gestalt eines unregelmässig kreisförmigen Bandes, das eine Breite von ungefähr 1 mm aufweist. Die Droge besitzt im allgemeinen eine dunkelrot-violette Farbe, doch kommen auch hellere Stellen vor, hauptsächlich an der Innenseite und an dünneren Exemplaren. Die Basis der Kelchblätter ist gelb, auch hie und da schwach rötlich gefärbt.

Die Behaarung scheint je nach Herkunft der Droge verschieden stark zu sein. Diepenbrock erwähnt bei einer aus Mexiko importierten Ware, dass bei Lupenbetrachtung sowohl auf der Innen- wie auch auf der Aussenseite grosse Mengen kleinerer Haare festgestellt werden können. Auf der Aussenseite soll die Behaarung so dicht sein, dass sie der Droge einen gelbgrauen Schimmer verleiht. Auch Leupin erwähnt in seiner Arbeit die Haarbildung der Kelchblätter. An seinem Material, wie auch an dem von uns untersuchten, sind die Haare in viel geringerer Anzahl vorhanden.

Anatomie des Innenkelches.

Betrachtet man die an verschiedenen Stellen ausgeführten Querschnitte, so fällt einem vor allem die rote Färbung des gesamten Gewebes auf, mit Ausnahme derjenigen Zellen, die im basalen Teil der

Droge liegen. An der breitesten Stelle beträgt der Durchmesser des Querschnittes über 1 mm. Gegen die Spitze der Kelchblätter hin nimmt er naturgemäss gleichmässig ab.

Der Innenkelch ist auf beiden Seiten von einer dünnen Cuticula umgeben. Auf der Innenseite erkennt man quadratische und gestrecktrechtwinklige Epidermiszellen, deren Wände allseitig stark verdickt sind. Die Aussenwände der Zellen weisen mächtige Verschleimungen auf, die durch ihre wulstartigen Ausbuchtungen das Lumen der Epidermiszellen oft beträchtlich verengern. An der Aussenseite sind die Zellen der Epidermis gleichmässiger verdickt und weniger gestreckt als die an der Innenseite. Spaltöffnungen findet man in beiden Epidermen, auf der innern Seite jedoch reichlicher.

Das Mesophyll ist sehr regelmässig gebaut. Es besteht aus schwammigfleischigen, isodiametralen Zellen. Ein palisadenähnliches Gewebe ist nicht zu erkennen. Die der Epidermis benachbarten Zelllagen zeichnen sich durch stark verdickte Wände aus.

Die Gefässbündel sind alle collateral gebaut. Der Siebteil ist sehr klein, da er wahrscheinlich durch das Trocknen der Droge weitgehend zerstört worden ist. Die Hauptgefässbündelgruppen an der Blattbasis sind auf der Innenseite von starken Sklerenchymfasern begleitet. Solche findet man im obern Teile des Kelchblattes nur noch vereinzelt. In den Querschnitten beobachtet man, auch im ganzen Mesophyll verteilt, meistens aber auf beiden Seiten der Nerven, sogenannte Schleimlücken. Sie zeigen oft eine rundliche oder ellipsoide Form. Im Längsbild erscheinen sie langgestreckt, zu unverzweigten Schläuchen ausgestaltet. Ihr Durchmesser hat eine Grösse von 40—200 μ. Die Membran dieser Behälter ist schwach verdickt und ungetüpfelt. Der homogene Inhalt weist keinerlei Struktur auf und ist wie die übrigen Teile der Droge rot gefärbt.

Besonders im unverholzten Parenchym, das die Blattnerven umgibt, aber auch über den ganzen Querschnitt verteilt, beobachtet man kleinere und grössere Kalkoxalatdrusen. Auch in der Epidermis trifft man sie häufig, und zwar in der Ober- und Unterseite. In den verholzten, starkwandigen und getüpfelten Parenchymzellen, welche zur Festigung der Nerven dienen, finden sich Drusen, die nach der Art der Rosanoff'schen Drusen mit der Zellwand nach allen Richtungen hin durch Zellulosebalken verbunden sind. Mit dem Casparis'schen Reagens (Kobaltrhodanid) färben sich diese Membranfäden blau. Mit Phloroglucin-Salzsäure dagegen konnte die Verholzung nicht deutlich nachgewiesen werden.

Die Längs- und Flächenbilder entsprechen vollkommen den im Querschnitt gewonnenen. Die Schleimschläuche haben die beträcht-

liche Länge von 800 μ. Die Cuticula weist auf der Ober- und Unterseite eine deutliche Streifung auf, meistens in der Längsrichtung des Kelches.

Die Anatomie des Aussenkelches.

Die Mesophyllzellen sind im allgemeinen schwächer verdickt als die des Innenkelches. Drusen trifft man hauptsächlich in der Nähe der Epidermis, selten in den Epidermiszellen. Schleimschläuche liegen auch hier verstreut im Mesophyll.

Ueber die auf der Droge vorkommenden Haare kann gesagt werden, dass es sich hauptsächlich um grosse Borstenhaare handelt. Sie zeichnen sich durch dicke Wände aus und durch ein weites, mit braunem Inhalt gefülltes Lumen. Meistens sind an der Droge nur noch die Narben dieser abgebrochenen, einzelligen Haare zu erkennen. Neben diesen Borstenhaaren lassen sich an der Basis der Droge wenige geisselförmig gewundene Haare erkennen, die einzeln oder zu zweien als Zwillingshaare auftreten. Auch Drüsen- und Köpfchenhaare sind beobachtet worden.

Ueber Elemente, die nur an einigen bestimmten Stellen des Kelches ihren Sitz haben und deshalb nur zufällig getroffen werden, gibt Diepenbrock nähern Aufschluss.

Es handelt sich um Nektarien, die an der Mittelrippe der äussern Seite des Kelchblattes, ungefähr auf halber Blatthöhe sitzen. Der Blattnerv ist an dieser von den Nektarien besetzten Stelle etwas verdickt, was durch leisen Druck mit den Fingerspitzen festgestellt werden kann. Betrachtet man die Stelle mit der Lupe, so erkennt man den Ausführungsgang dieser Nektarien als runde, häufiger ellipsenförmige oder strichförmige Oeffnung.

Im Querschnitt lässt sich die Form dieser Nektarien gut erkennen. Sie sind einem weitbauchigen Krug nicht unähnlich, der tief in das Blattgewebe eingesenkt ist und auf den Gefässbündeln ruht.

Der Boden ist in der Mitte etwas nach innen vorgewölbt und dicht mit Drüsenhaaren besetzt. Er besteht aus drei Zellen, die im Querschnitt fast rund, im Längsschnitt aber etwas länger als tief erscheinen und einen rotbraun gefärbten Inhalt bergen. Der enge und lange Hals des Nektariums ist von einer Cuticula umgeben, die als Fortsetzung der Cuticula der Blattunterseite anzusehen ist. Das anschliessende Gewebe, das den Ausführungsgang umgibt, besteht aus 2—3 Reihen grosser, dickwandiger Zellen mit gelb-braunem Inhalt.

Bei dem abgesonderten Nektar handelt es sich um eine Zuckerart, die im Stande ist, Fehling'sche Lösung zu reduzieren.

Auch auf der Innenseite des Kelchblattes findet man Sekretionsorgane, die aber ganz anders gebaut sind als die Nektarien auf der Aussenseite des Blattes.

Hier handelt es sich um vielzellige lange Drüsenhaare, die sich am Fusse der Blätter kranzförmig um den ganzen Kelch herumziehen. Diese Organe sollen durch Nektarabsonderung zum Anlocken der Insekten dienen.

Die Haare bestehen aus einer basalen Stielzelle, die zwischen die Epidermiszellen eingesenkt ist, aus einem vielzelligen, etwas bauchigen Mittelstück und einer grossen, kugelförmigen Endzelle.

Unter der Epidermis liegt ein Gewebe aus grossen, dünnwandigen Zellen, die mit körnigem Inhalt angefüllt sind. Diese Körner sind meist einfach, können aber auch aus zwei Teilen zusammengesetzt sein. Nach Diepenbrock soll es sich um stärkeähnliche Körper handeln. Die Untersuchungen an unserem Material zeigten Resultate, die sich mit den Angaben der beiden Autoren vollständig decken.

III. Chemischer Teil.

Für die Untersuchung von Pflanzen oder Pflanzenteilen besteht kein allgemein gültiger Analysengang. Das Gebiet ist dazu viel zu reichhaltig und zu weit. Davon ausgenommen sind einige allgemeine Bestimmungen und Prüfungen, die bei jeder Pflanze ausgeführt werden können, die Bestimmungen der sogenannten „äusserlichen" Kennzahlen, nach denen man dann auch den Gang der Hauptuntersuchung festlegen kann.

Wir haben uns im allgemeinen an die Untersuchungsrichtlinien gehalten, die u. a. von *Klein*[23]) empfohlen werden. Nach diesen Richtlinien gehen wir bei der Pflanzenanalyse so vor, dass wir zuerst Voruntersuchungen ausführen, die uns einen allgemeinen Ueberblick über die zu untersuchende Droge geben, die aber über die Einzelbestandteile des Pflanzenteiles noch nichts aussagen. In der Hauptuntersuchung befassen wir uns mit der Trennung der verschiedenen Körperklassen der Pflanze und mit der Isolierung und Reinigung der Einzelbestandteile.

Als Voruntersuchung haben wir folgende Bestimmungen ausgeführt:

1. Bestimmung des Trockenrückstandes der Droge.
2. Bestimmung des Aschengehaltes und der in Salzsäure unlöslichen Asche.
3. Analyse der Asche.
4. Bestimmung des Extraktgehaltes:
   a) Mit Petroläther.
   b) Mit Aether.
   c) Mit Aceton.
   d) Mit Spiritus (95 %).
   e) Mit Spiritus (70 %).
   f) Mit Wasser.

A. Voruntersuchungen.

1. Bestimmung des Trockenrückstandes.

Vor allem ist zu bemerken, dass der Gehalt eines Pflanzenteiles an Trockensubstanz oder Wasser keine absolut feststehende Grösse ist. Besonders, wenn es sich wie in unserem Falle um eine Ueberseedroge handelt, die auf dem langen Transportweg den verschieden-

sten Witterungseinflüssen ausgesetzt ist. Und da uns eigene Kulturen nicht zur Verfügung standen, beziehen sich die Resultate immer nur auf die gerade untersuchte, lufttrockene Droge.

Bei Pflanzen, die keine flüchtigen Stoffe, wie z. B. ätherische Oele, enthalten, bestehen die bei 100° flüchtigen Bestandteile aus Wasser, und die Bestimmung des Trockenrückstandes ist identisch mit einer Wassergehaltsbestimmung.

Diese Untersuchung haben wir nach den Angaben von *Klein*[24]) vorgenommen.

Aus drei Proben, deren Werte ziemlich genau übereinstimmten, wurde der Mittelwert genommen.

a)	Gewicht der zu trocknenden Droge	1,7800 g
	Gewicht der getrockneten Droge .	1,6294 g
	Gewichtsverlust	0,1504 g
b)	Gewicht der zu trocknenden Droge	2,0417 g
	Gewicht der getrockneten Droge .	1,8694 g
	Gewichtsverlust	0,1727 g
c)	Gewicht der zu trocknenden Droge	1,7820 g
	Gewicht der getrockneten Droge .	1,6305 g
	Gewichtsverlust	0,1515 g

Nach diesen Werten beträgt der Trockenrückstand für unsere Droge 91,5 %, der Wassergehalt 8,5 %.

Für Drogen, die ätherisches Oel enthalten, schreibt Pharmacopoea Helvetica V vor, das Trocknen „ohne Erhitzung im Phosphorpentoxyd-Exsiccator vorzunehmen." Wir haben auch nach dieser Methode den Trockenrückstand bestimmt und folgende Zahlen erhalten:

a)	Gewicht der zu trocknenden Droge	2,0512 g
	Gewicht der bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Droge	1,8665 g
	Gewichtsverlust	0,1847 g
b)	Gewicht der zu trocknenden Droge	1,7341 g
	Gewicht der bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Droge	1,5815 g
	Gewichtsverlust	0,1526 g
c)	Gewicht der zu trocknenden Droge	2,1514 g
	Gewicht der bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Droge	1,9384 g
	Gewichtsverlust	0,2130 g

Aus diesen drei Bestimmungen haben wir wiederum den Mittelwert genommen. Er beträgt für den Trockenrückstand 90,8 %. Für den Wassergehalt 9,2 %.

Da die Differenz aus beiden Methoden zur Bestimmung des Trockenrückstandes weniger als 1 % beträgt, können wir sie vernachlässigen.

2. Bestimmung des Aschengehaltes.

Die Pharmakopoea Helvetica V versteht unter der Asche einer Droge die Menge des nichtflüchtigen, kohlenfreien Rückstandes, der beim vorsichtigen Verbrennen hinterbleibt.

Die Bestimmungen wurden nach den Angaben der Ph. H. V. ausgeführt.

1. Probe:	Gewicht der zu veraschenden Droge . .	1,2372 g
	Gewicht der bis zur Gewichtskonstanz geglühten Asche	0,1054 g
	Asche (auf Trockensubstanz bezogen) . .	9,3 %
2. Probe:	Gewicht der zu veraschenden Droge . .	1,6087 g
	Gewicht der bis zur Gewichtskonstanz geglühten Asche	0,1422 g
	Asche (auf Trockensubstanz bezogen) . .	9,6 %
3. Probe:	Gewicht der zu veraschenden Droge . .	1,6572 g
	Gewicht der bis zur Gewichtskonstanz geglühten Asche	0,1410 g
	Asche (auf Trockensubstanz bezogen) .	9,3 %

Aus diesen drei Proben ergibt sich für unsre Droge der Mittelwert: 9,4 % Asche auf die Trockensubstanz umgerechnet.

Bestimmung der in Salzsäure unlöslichen Asche,

nach Vorschrift der Pharmakopoea Helvetica V.

1. Probe:	Gewicht der zu untersuchenden Asche .	0,1054 g
	Gewicht des salzsäureunlöslichen Teiles der Asche	0,0173 g
2. Probe:	Gewicht der zu untersuchenden Asche .	0,1422 g
	Gewicht des salzsäureunlöslichen Teiles der Asche	0,0317 g
3. Probe:	Gewicht der zu untersuchenden Asche .	0,1410 g
	Gewicht des salzsäureunlöslichen Teiles der Asche	0,0227 g

Wir erhalten den Mittelwert 1,73 % salzsäureunlösliche Asche auf Trockensubstanz bezogen.

3. Analyse der Asche.

Die geglühte Asche besitzt eine intensiv blau-grüne Farbe, die auf die Anwesenheit von Mangan schliessen lässt.

Natrium: Die langanhaltende, typische gelbe Flammenfärbung gibt die Anwesenheit von Natrium deutlich zu erkennen.

Kalium: Durch Kobaltglas betrachtet zeigt die Flamme die für Kalium typische Färbung.

Wir haben die Asche in verdünnter Salzsäure gelöst und vom Ungelösten abfiltriert. Mit dieser Lösung wurden die nachfolgenden Untersuchungen ausgeführt.

Calcium: 1 cm^3 Stammlösung wird mit 1 cm^3 Ammoniak + 1 cm^3 Ammoniumoxalat versetzt. Es entsteht ein weisser, kristallinischer Niederschlag von Calciumoxalat, der in Essigsäure unlöslich ist.

Magnesium: 2 cm^3 Stammlösung + 1 cm^3 Ammoniak + 1 cm^3 Ammoniumcarbonat: es fällt ein weisser Niederschlag aus, der abfiltriert wird.

3 cm^3 Filtrat + 1 cm^3 Natriumphosphat geben einen weissen, kristallinischen Niederschlag von Magnesiumammoniumphosphat.

Aluminium:

1. 1 cm^3 Stammlösung + 1 cm^3 Ammoniumchlorid wird mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion versetzt. Der entstandene weisse Niederschlag wird mit Soda auf Kohle vor dem Lötrohr erhitzt. Es entsteht ein weisses unschmelzbares Oxyd, das mit Kobaltnitratlösung befeuchtet und wieder geglüht eine blaue, unschmelzbare Masse liefert (Thénardsblau-Reaktion).
2. *Morinreaktion* nach *Goppelsrœder*[25]). Morin in alkoholischer Lösung zeigt auf Zusatz einer neutralen Lösung der Asche eine intensive grüne Fluoreszenz.

Eisen:

1. 1 cm^3 Stammlösung gibt auf Zusatz von 1 cm^3 Ferrocyankalium eine Blaufärbung (Berlinerblau).
2. 1 cm^3 Stammlösung + 1 cm^3 Kaliumrhodanid gibt eine blutrote Färbung.

Mangan: Die salzsaure Lösung der Asche wird mit Schwefelsäure zweimal abgeraucht, da HCl die $HMnO_4$ zerstören würde. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst. Einige Tropfen dieser Lösung werden in ein Gemisch von H_2O + HNO_3 + PbO_2 gegeben. Nach dem Kochen und Absitzenlassen ist die überstehende Lösung schwach rosa gefärbt. Für Mangan spricht auch die grüne Farbe der Asche.

Sulfat: Aus 1 cm^3 Stammlösung wird mit 1 cm^3 Bariumnitrat ein schwacher, weisser Niederschlag von Bariumsulfat

gefällt, der in verdünnten Säuren nicht gelöst werden kann.

Phosphat: 1. 1 cm^3 Lösung wird mit Ammoniumchlorid und 1 cm^3 Magnesiumsulfat versetzt. Es entsteht ein weisser kristallinischer Niederschlag.

2. 1 cm^3 Lösung + 1 cm^3 HNO_3 konz. + 2 cm^3 Ammoniummolybdat werden vermischt. Beim Erwärmen auf dem Wasserbade scheidet sich ein gelber, kristallinischer Niederschlag von Ammoniumphosphormolybdat ab.

Chlorid: Zum Chloridnachweis wird die Asche in verdünnter Salpetersäure gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 1 cm^3 Silbernitrat. Es entsteht ein weisser, flockiger Niederschlag von Silberchlorid.

Carbonat: Versetzt man die Asche mit verdünnter Salzsäure, so entweicht unter aufbrausen Kohlendioxyd.

Die wässerige Aufschwemmung der Asche reagiert auf Lackmus alkalisch.

Wir haben die Asche auch nach dem Analysengang von *Friedrich Fichter*[26]) untersucht und sind zu denselben Resultaten gelangt.

Nach diesen Reaktionen konnten in der Asche nachgewiesen werden:

Na, K, Ca, Mg, Al, Fe, Mn, Sulfat, Phosphat, Chlorid, Carbonat.

4. Bestimmung des Extraktgehaltes der Droge mit verschiedenen Lösungsmitteln.

Diese Untersuchung gibt uns ein Bild, welche Menge an Inhaltstoffen der Droge in einem bestimmten Losungsmittel löslich sind. Die Arbeitsweise hat einen wesentlichen Einfluss auf die Ergebnisse der Bestimmung. Deshalb geben wir im Folgenden eine kurze Beschreibung:

1 g der gepulverten, trockenen Droge wird mit 50 cm^3 des Lösungsmittels übergossen und bei Zimmertemperatur ca. eine Stunde stehen gelassen. Darauf erhitzt man zwei Stunden am Rückflusskühler, wobei eine Heizquelle gewählt werden muss, die das Lösungsmittel dauernd in schwachem Sieden hält. Man lässt erkalten und ergänzt, wenn nötig, den Verlust an Lösungsmittel. 25 cm^3 der abfiltrierten Lösung werden in einer gewogenen Schale auf dem Wasserbade erwärmt, bis das Lösungsmittel vollständig verdunstet ist. Nach dem Trocknen bei 103° und nach halbstündigem Stehen im Exsiccator wird gewogen. Die Werte sind auf die Trockensubstanz der Droge umgerechnet.

a) Mit Petroläther ausgezogen beträgt der Extraktgehalt 2,1 %
b) Mit Aether ausgezogen . . . . . 5,2 %
c) Mit Aceton ausgezogen . . . . . 11,1 %
d) Mit Spiritus (95 %) . . . . . 19,3 %
e) Mit Spiritus (70 %) . . . . . 25,2 %
f) Mit Wasser . . . . . 50,6 %

Wir haben das gleiche Drogenpulver auch nacheinander mit verschiedenen Lösungsmitteln extrahiert und dabei nachstehende Reihenfolge innegehalten:

Petroläther, Aether, Aceton, Spiritus (95 %), Methylalkohol (70 %).

Durch Perkolation haben wir aus 200 g Droge folgende Werte erhalten:

a) Mit Petroläther . . . . . 2,5 %
b) Mit Aether . . . . . 2,0 %
c) Mit Aceton . . . . . 9,0 %
d) Mit Spiritus (95 %) . . . . . 11,2 %
e) Mit Methylalkohol (70 %) . . . . . 10,5 %

B. Hauptuntersuchung.

Um Anhaltspunkte zu erhalten, mit welchen Inhaltsstoffen man bei der Untersuchung zu rechnen hat, und um die geeignetste Untersuchungsmethode zu erkennen, haben wir einige Vorproben ausgeführt.

1. Wasserdampfdestillation.
2. Herstellung und Prüfung von Extrakten aus verschiedenen Lösungsmitteln.
3. Mikrosublimation.

1. Vorproben.

a. Wasserdampfdestillation.

Durch diese Untersuchungsmethode, direkt an der Droge vorgenommen, werden hauptsächlich Stoffe isoliert, die wir allgemein als ätherische Oele bezeichnen.

Ca. 10 g gepulverte Droge wurden solange der Wasserdampfdestillation unterworfen, bis sich ca. 500 cm^3 Destillat gebildet hatten. Um zu erfahren, ob wasserdampfflüchtige Stoffe darin enthalten sind, haben wir in 100 cm^3 des Destillates 30 g Kochsalz gelöst und diese Lösung mit Pentan mehrmals ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels ist kein Rückstand zurückgeblieben. Mit einem weiteren Teil des Destillates haben wir verschiedene Reaktionen ausgeführt. Er reagierte gegen Lackmus neutral und besass das spezifische Gewicht des Wassers. Die Prüfungen des Destillates auf Stickstoff und Schwefel ergaben negative Resultate.

Nach diesen Untersuchungen haben wir den Schluss gezogen, dass durch direkte Destillation keine wasserdampfflüchtigen Stoffe aus der Droge erhalten werden können.

b. Herstellung und Prüfung von Extrakten aus verschiedenen Lösungsmitteln.

Für die Herstellung der Drogenextrakte haben wir das Perkolationsverfahren gewählt, da durch diese Methode, auf kaltem Wege, die Inhaltsstoffe eine möglichst schonende Behandlung erfahren.

Petrolätherauszug.

200 g gepulverte Droge (IV) wurden mit 200 g gewaschenem und geglühtem Seesand gut gemischt und mit Petroläther gleichmässig angefeuchtet. Um das Verdunsten des Lösungsmittels zu vermeiden, wurde die so vorbereitete Masse sofort durch Sieb III geschlagen und vorschriftgemäss in den Perkolator eingefüllt. Nach 24-stündigem Stehenlassen haben wir mit der Perkolation begonnen und die petrolätherlöslichen Stoffe erschöpfend ausgezogen. Das grünlich gefärbte Perkolat wurde filtriert und hierauf im Vakuum auf dem Wasserbade eingedampft. Wir erhielten einen dunkelgrünen, fettartigen Extrakt. Sein Gewicht betrug 4,6 g. Im ultravioletten Licht zeigte er eine rote Fluoreszenz, was auf Clorophyll hinweist. Im Petrolätherextrakt können zahlreiche Stoffe vorhanden sein. In der Hauptsache Fette, fette Oele und Wachse, Glykoside und Alkaloide, letztere nur als freie Basen. Endlich Farbstoffe, wie z. B. Chlorophyll.

Hierzu möchten wir bemerken, dass wir in der vorliegenden Arbeit von der Isolierung und Bestimmung der in der Droge vorkommenden Farbstoffe abgesehen haben, da diese in den in der Einleitung erwähnten Arbeiten bereits erschöpfend behandelt worden sind.

Prüfung auf wasserlösliche Bestandteile.

Im Petrolätherauszug kommen als wasserlöslich glykosidartige Stoffe in Frage und Alkaloide, wenn man angesäuertes Wasser verwendet.

Ein Teil des Extraktes wurde mit salzsäurehaltigem (1 %) Wasser nacheinander dreimal ausgeschüttelt. Eine Probe dieser Lösung mit Mayers-Reagens geprüft zeigte kein possitives Resultat. Die vereinigten wässerigen Auszüge versetzten wir bis zur alkalischen Reaktion mit Natriumcarbonatlösung. Darauf wurde diese schwach alkalische Lösung dreimal mit Petroläther ausgeschüttelt. Nach dem Einengen auf dem Wasserbade ist kein Rückstand zurückgeblieben.

Alkaloide sind also im Petrolätherextrakt keine vorhanden.

Zur Prüfung auf Glykoside haben wir einen Teil des Extraktes mit salzsäurehaltigem Wasser längere Zeit gekocht. 2 cm^3 des Filtrates wurden mit einigen Tropfen einer 20 %igen alkoholischen α-Naphthol-

lösung versetzt und mit konz. Schwefelsäure unterschichtet. Es zeigte sich kein blauer Ring, der die Zuckerkomponente der Glykoside bestätigen würde.

Also sind auch keine Glykoside im Extrakt anwesend.

Durch die Perkolation mit Petroläther haben wir also neben Farbstoffen (Chlorophyll) lediglich die fettartigen Stoffe der Droge abgetrennt.

Prüfung der fettartigen Stoffe.

Der Gehalt an Fetten oder fettartigen Bestandteilen beträgt 2,3 %, auf Trockensubstanz umgerechnet 2,5 %.

Ein Teil dieses Fettgemisches liess sich mit Kalilauge verseifen. Mit dem Unverseifbaren haben wir einige qualitative Reaktionen angestellt.

1. Reaktion nach Hager-Salkoski[27]*).*

Wir lösten einige Zentrigramme Substanz in Chloroform und schüttelten die Lösung mit dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure. Die Chloroformlösung färbte sich schwach rot. Nach einiger Zeit ging die Färbung in Purpurrot über.

2. Reaktion nach Neuberg[27]*).*

Wir lösten die Substanz in ca. 1,5 cm^3 absolutem Alkohol, gaben ein stecknadelkopfgrosses Stückchen Rhamnose dazu und lösten unter Erwärmen. Nach dem Abkühlen wurde mit dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. An der Berührungsfläche entstand ein himbeerfarbener Ring. Beim Vermischen färbte sich die ganze Flüssigkeit rot.

3. Reaktion nach Whitby[27]*).*

Die Substanz wurde in 2 cm^3 Chloroform gelöst. Zu dieser Lösung gaben wir 2 cm^3 eines Gemisches von 50 Vol. konzentrierter Schwefelsäure + 1 Vol. Formalin und schüttelten gut durch. Die obere Schicht war rot gefärbt. Diese rotgefärbte Schicht wurde abgetrennt und mit 3 Tropfen Essigsäureanhydrid versetzt. Die Farbe ging in blau und nach einer Stunde in grün über.

Die positiven Resultate dieser Untersuchungen lassen die Anwesenheit von Phytosterinen erkennen.

Die Fette haben wir nicht weiter untersucht, da dies für unsere Arbeit nicht wichtig schien.

Aetherauszug.

Die mit Petroläther extrahierte Droge wurde nun nach dem Verdunstenlassen des noch anhaftenden Petroläthers zur Aetherperkolation vorbereitet. Wir haben die Drogenmasse wiederum mit dem Lösungsmittel gut durchgearbeitet, gesiebt und in den Perkolator ein-

gefüllt. Bei der Perkolation zeigte es sich, dass der in Aether lösliche Farbstoff schon nach kurzer Zeit quantitativ herausgelöst werden konnte. Entnahmen wir aber der farblosen Fraktion eine kleine Probe, so hinterblieb nach dem Verdunsten des Aethers auf dem Uhrglas ein allerdings verschwindend kleiner Rückstand. Selbst nach langem Perkolieren konnte in einer entnommenen Probe diese weisse, kristallinisch erscheinende Substanz noch festgestellt werden. Wir sahen deshalb von einer quantitativen Aetherperkolation ab, da wir dazu eine unverhältnismässig grosse Menge Lösungsmittel hätten anwenden müssen. Wir unterbrachen die Perkolation, in der Annahme, dass dieser Stoff oder diese Stoffe mit einem anderen Lösungsmittel besser erfasst werden können.

Die vereinigten, filtrierten Fraktionen wurden im Vakuum auf dem Wasserbade eingeengt. Es blieb ein dunkelgrüner, fester Extrakt zurück, der an der Luft dickflüssig wurde. Sein Gewicht betrug 3,8 g. Nach ca. 48 stündigem Stehenlassen im Schwefelsäureexsiccator erstarrte er wieder vollständig. Diese Veränderung kann eine im Extrakt befindliche stark hygroskopische Substanz hervorrufen.

Im ultravioletten Licht wies der Extrakt eine rote Fluoreszenz auf (Chlorophyll).

Bei der Verarbeitung des Aetherextraktes muss man wiederum mit verschiedenen Inhaltsstoffen rechnen.

Glykoside, Alkaloide und Farbstoffe kommen in Frage, ebenso ätherlösliche Säuren.

Zur Isolierung der Alkaloide haben wir, wie beim Petrolätherauszug, einen Teil des Extraktes mit salzsäurehaltigem Wasser ausgezogen. Mit Mayer's Reagens ergab sich auch hier kein Niederschlag. Die Reaktion auf Glykoside (siehe Seite 22) zeigte ebenfalls ein negatives Resultat. Da der Aetherextrakt gegen Lackmus sauer reagierte, war mit der Anwesenheit organischer, in Aether löslicher Säuren zu rechnen.

Um zu diesen Säuren zu gelangen, lösten wir einen Teil des Extraktes in Aether und schüttelten die Lösung mit Wasser aus.

Die wässerige, rotgelb gefärbte Lösung wurde nun dreimal mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Aethers hinterblieb kein Rückstand. Es musste sich also um saure Körper handeln, die leichter in Wasser als in Aether löslich sind, wie z. B. verschiedene Fruchtsäuren.

Da man in der Pflanzenanalyse mit der Bleifällungsmethode nach Rohleder bei der Isolierung einzelner Stoffe gute Resultate erhält, haben wir uns dieser Methode bedient, obgleich wir wissen, dass quantitative Resultate selten oder nur sehr schwer zu erhalten sind.

Die wässerige, sauer reagierende Lösung wurde in der Hitze mit 10 %igem Bleiazetat versetzt. Es entstand ein dicker, amorpher

weisser Niederschlag. Wir haben solange tropfenweise Bleiazetat zugegeben, bis ein neu einfallender Tropfen keinen Niederschlag mehr erzeugte. Dieser Niederschlag I wurde abgenutscht, zuerst mit wenig Bleiazetat nachgewaschen, darauf mit Wasser, solange bis das abgesaugte Waschwasser nicht mehr sauer reagierte. Eine kleine Probe des Filtrates versetzten wir mit Bleiessig bis zur alkalischen Reaktion. Es gab eine starke Trübung. Daraufhin wurde das gesamte Filtrat heiss mit Bleiessig gefällt. Den gebildeten Niederschlag II haben wir abgenutscht, zuerst mit wenig Bleiessig und darauf mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat, das wir Flüssigkeit III nennen, wurde zur späteren Untersuchung beiseite gestellt.

Da wir auch in allen übrigen Drogenauszügen die Bleifällungsmethode angewandt haben, wollen wir den Gang dieser Arbeit hier ausführlich beschreiben.

Der Niederschlag I wurde mit verschiedenen Lösungsmitteln behandelt, um eine Trennung der Bleisalze herbeizuführen:

Zuerst suspendierten wir den Niederschlag in 90 %igem Spiritus. Nach zweistündigem Erhitzen am Rückflusskühler auf dem Wasserbade wurde filtriert. Eine Probe des Filtrates auf einem Uhrglas eingedunstet zeigte keinen Rückstand. Es war also im Spiritus (90 %) nichts löslich. Hierauf wurde der vom Spiritus abfiltrierte Niederschlag Ia in 10 %ige Essigsäure eingetragen. Um zu erkennen, ob sich ein Teil davon gelöst hat, versetzten wir eine Probe des Filtrates mit Bleiessig bis zur alkalischen Reaktion. Da weder ein Niederschlag noch eine Trübung entstand, mussten wir annehmen, dass der Bleiniederschlag auch in Essigsäure unlöslich ist. Der von der Essigsäure abfiltrierte Niederschlag Ib, der in unserem Falle immer noch mit Niederschlag I identisch ist, wurde hierauf in Wasser suspendiert. Um die Aufschwemmung vom Blei zu befreien, leiteten wir Schwefelwasserstoff ein, bis sämtliches Blei als Sulfid gefällt war. Aus dem Filtrat vertrieben wir den überschüssigen Schwefelwasserstoff durch Einleiten von Kohlendioxyd. Nach dem Einengen im Vakuum blieb eine schwach gelb gefärbte, sirupöse Masse zurück, die im Schwefelsäureexsiccator nach ca. einer Woche in Kristallisation überging. Wir konnten dabei beobachten, dass sich von einigen Punkten aus lange Kristallnadeln fächerförmig ausbreiteten, bis endlich die ganze dickflüssige Masse sich in Kristalle umgewandelt hatte.

Die weitere Untersuchung dieser Kristalle A_1 wollen wir später (Seite 29) ausführlich beschreiben, da dieselben Gebilde auch noch aus andern Extrakten erhalten wurden.

Der mit Bleiessig gefällte Niederschlag II wurde in derselben Weise wie Niederschlag I zuerst mit Spiritus ausgezogen. Auch hier konnte keine alkohollösliche Fraktion isoliert werden. Den vom Spiritus abfiltrierten Bleiniederschlag IIa suspendierten wir in Wasser. Nach

dem Entbleien und Eindampfen im Vakuum blieb wieder ein gelb gefärbter Sirup B_1 zurück, der aber im Exsiccator über Schwefelsäure nach 2 Tagen wohl erstarrte, aber auch nach wochenlangem Stehenlassen nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Auch auf die Untersuchungen an dieser dickflüssigen Masse B_1 wird später (Seite 31) näher eingegangen.

Das Filtrat der Bleiazetat- und Bleiessigfällung, das wir als Flüssigkeit III bezeichnet haben, wurde auf die übliche Weise vom überschüssigen Blei befreit. Die wässerige Flüssigkeit, die noch freie Essigsäure enthalten muss, hinterliess nach dem Eindampfen im Vakuum keinen Rückstand.

Wir haben also mit der Bleifällungsmethode aus dem Aetherextrakt eine kristallinische Fraktion A_1 und eine dickflüssige, gelb gefärbte Fraktion B_1 erhalten.

Acetonauszug.

Die mit Petroläther und Aether extrahierte Droge wurde hierauf mit Aceton perkoliert.

Der Vorlauf des Perkolates besass eine intensiv gelbrote Farbe. Im Nachlauf ging die Färbung von rot immer mehr in gelb über. Den in Aceton löslichen Farbstoff konnten wir leicht quantitativ aus der Droge entfernen, während wiederum andere Bestandteile nach langem Perkolieren immer noch nicht vollständig ausgezogen waren. Die Droge ist also mit Aceton ebenfalls nur annähernd erschöpfend extrahiert worden.

Das im Vakuum eingedampfte Perkolat stellte einen dunkel roten dickflüssigen Extrakt dar, der gegen Lackmus sauer reagierte. Nach negativ ausgefallenen Vorproben auf Glykoside und Alkaloide versuchten wir seine Inhaltsstoffe mit dem Bleifällungsverfahren zu trennen. Zu diesem Zwecke lösten wir den Extrakt in Wasser auf, versetzten die heisse Lösung mit Bleiazetat und erhielten einen weissen Niederschlag I. In dem mit Bleiessig behandelten Filtrat dieses Bleiniederschlages entstand nur eine opaleszierende, schwache Trübung, die wir nicht weiter untersucht haben.

Auch in diesem Extrakt enthielt der Niederschlag I keinen spirituslöslichen Teil. Auch in Essigsäure war der Niederschlag unlöslich. Zur weiteren Untersuchung wurde in Wasser suspendiert und entbleit. Das rote wässerige Filtrat kochten wir mit Kohle, um den störenden Farbstoff zu entfernen. Die heiss filtrierte Kohlenaufschwemmung lieferte ein klares, farbloses Filtrat, das im Vakuum eingedampft einen schwach gelb gefärbten sirupösen Rückstand hinterliess. Nach etwa einer Woche beobachteten wir wiederum die gleiche Kristallbildung wie bei der im Aetherextrakt beschriebenen Fraktion A_1. Diese aus dem Acetonextrakt gewonnenen Kristalle bezeichnen wir mit A_2. In der Flüssig-

keit III (Filtrat der Bleiazetat- und Bleiessigfällung) konnten keinerlei Inhaltsstoffe nachgewiesen werden.

Auszug mit 95 %igem Spiritus.

Die mit Petroläther, Aether und Aceton behandelte Droge wurde der Spiritus(95 %)-Perkolation unterworfen. Das Perkolat wies eine leuchtend weinrote Farbe auf und reagierte stark sauer. Durch Kochen mit Kohle wurde die Lösung vom Farbstoff befreit. Nach dem Einengen im Vakuum erhielten wir einen zähen, gelbgefärbten Extrakt.

Mit Bleiazetat fällten wir aus der wässerigen Lösung dieses Extraktes einen weissen Niederschlag I. Das Filtrat versetzten wir mit Beiessig und erzeugten einen ebenfalls weissen Niederschlag II.

Bei der Untersuchung des Niederschlages I haben wir keinen spirituslöslichen Teil erhalten. Da auch mit Essigsäure der Niederschlag nicht in Lösung zu bringen war, wurde er in Wasser suspendiert, entbleit, und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand entsprach den in den anderen Extrakten gefundenen Fraktionen. Die schwach gelbgefärbte Masse kristallisierte im Schwefelsäureexsiccator in langen, fächerförmig ausstrahlenden Nadeln aus. Wir bezeichnen sie mit A_3.

Der Niederschlag II wurde gleich behandelt wie der mit Bleiazetat gefällte Niederschlag. Da kein spirituslöslicher Anteil isoliert werden konnte, leiteten wir in die wässerige Aufschwemmung des Niederschlages Schwefelwasserstoff ein zur Entfernung des Bleis. Nach dem Filtrieren erhielten wir aus dem klaren, schwach gelb gefärbten Filtrat einen zähen Rückstand, der auch im Exsiccator nach langem Stehen nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Wir geben dieser sirupösen Masse die Bezeichnung B_2.

In die Flüssigkeit III leiteten wir zum Entbleien Schwefelwasserstoff ein und dampften das klare, farblose Filtrat in Vakuum ein.

Mit einem Teil des braunen, sirupösen Rückstandes haben wir einige Reaktionen ausgeführt:

1. Die wässerige Lösung versetzten wir mit einer alkoholischen α-Naphthollösung und unterschichteten mit konzentrierter Schwefelsäure. An der Berührungszone entstand ein violetter Ring. Beim Umschütteln färbte sich die gesamte Flüssigkeit violett.

2. Fehling'sche Lösung wurde auf Zusatz von wenig sirupösem Rückstand in der Hitze reduziert.

3. Wir erwärmten einen Teil des Extraktes im Wasserbade mit einem Gemisch aus gleichen Teilen rauchender Salzsäure und Wasser, dem wir vor dem Erwärmen Resorcin zugegeben hatten. Es entstand eine Rotfärbung, die mit Reaktionen an Fruktose und Glykose verglichen deutlich zeigte, dass sich der untersuchte Stoff gleich ver-

hält wie Fruktose. Bei Glykose entsteht die Rotfärbung erst nach viel längerem Erwärmen.

Auszug mit 70 % igem Methylalkohol.

Die mit den erwähnten Lösungsmitteln behandelte Droge haben wir zum Schluss noch mit 70 % igem Methylalkohol extrahiert. Das Perkolat besass eine leuchtend weinrote Farbe und reagierte wie der Spiritusauszug ebenfalls stark sauer. Nach dem Entfärben mit Kohle und dem Eindampfen im Vakuum blieb ein zäher, gelbbrauner Extrakt zurück.

Wir untersuchten den Extrakt nach der beim Aetherauszug ausführlich beschriebenen Bleifällungsmethode und gelangten zu folgenden Ergebnissen.

Mit Bleiazetat erhielten wir einen weissen voluminösen Niederschlag I. Bleiessig fällte aus dem Filtrat einen ebenfalls weissen, amorphen Niederschlag II aus. Auch hier war kein spiritus- und kein essigsäurelöslicher Teil des Bleiniederschlages I zu erhalten. Deshalb wurde der gesamte Niederschlag in wässeriger Aufschwemmung entbleit, und das Filtrat eingedampft. Wir erhielten auch aus diesem Auszug nach längerem Stehenlassen im Exsiccator dieselben fächerförmig kristallisierenden Kristallformen A_4.

Der anschliessend mit Bleiessig gefällte, weniger voluminöse Niederschlag II wurde ebenfalls entbleit, da kein spirituslöslicher Teil zu bekommen war. Nach dem Eindampfen blieb eine sirupartige, gelb gefärbte Masse B_3 zurück, die im Exsiccator glashart wurde, aber nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

Die Flüssigkeit III lieferte einen braunen Extrakt, mit dem wir wie beim Spiritusauszug einige Untersuchungen angestellt haben.

Folgende Reaktionen waren positiv:

1. Prüfung auf Kohlehydrate mit α-Naphthollösung.
2. Fehling'sche Probe.
3. Prüfung mit Resorcin-Salzsäure: bei gelindem Erwärmen trat Rotfärbung auf wie bei der Vergleichsreaktion mit Fruktose.

Wir nahmen an, dass es sich um die gleichen Inhaltsstoffe wie im Spiritusauszug handelt. Die Untersuchung dieser Kohlehydrate wird später ausführlich beschrieben. Wenn wir die Resultate miteinander vergleichen, die wir bei der Untersuchung der verschiedenen Extrakte erhalten haben, so fällt uns auf, dass nach dem Bleifällungsverfahren bei allen Extrakten aus den Niederschlägen I äusserlich betrachtet, dieselben Kristallmassen A isoliert werden konnten.

Ebenso aus den Niederschlägen II im Aether-, Alkohol- und Methylalkoholauszug die gleichen Fraktionen B. Die bei den ver-

schiedenen Extrakten erhaltene Ausbeute der Fraktionen A und B zeigt uns deutlich, dass es sich um Stoffe handeln muss, die sehr wenig in Aceton, wenig in Aether, leicht in Spiritus und sehr leicht in verdünntem Methylalkohol löslich sind.

Mit den stark hygroskopischen Kristallmassen A_1, A_2, A_3 und A_4 haben wir folgende Reaktionen ausgeführt, die bei allen mit A bezeichneten Fraktionen gleich ausgefallen sind:

1. Die Sinnenprüfung ergab einen stark sauren Geschmack.
2. Lackmuspapier wurde von der wässerigen Lösung deutlich gerötet.
3. Die Kristalle waren sehr leicht löslich in Wasser, leicht löslich in Spiritus, weniger leicht löslich in Aether, Aceton und Chloroform.

4. Prüfung auf Zitronensäure:

a) Aus einer kalten wässerigen Lösung fällten wir mit Kalkwasser einen weissen Niederschlag aus. Das Filtrat blieb auch in der Siedehitze vollständig klar. Zitronensaures Calcium wäre beim Erhitzen ausgefallen. Diese für Zitronensäure spezifische Reaktion ergab demnach ein negatives Resultat.

b) Reaktion nach *Stahre:*

Wir erwärmten im Wasserbade von ca. 30° eine konz. wässerige Lösung unserer Substanz. In der klaren Flüssigkeit war auf Zusatz von Bromwasser keine Trübung zu erkennen. Die Reaktion nach Stahre zeigte also auch ein negatives Ergebnis.

c) Reaktion nach *Denigès:*

Zu einer siedenden, wässerigen Lösung der zu untersuchenden Substanz, die wir mit etwa $^1/_{20}$ Volumen Merkurisulfatlösung (Denigèsreagens) versetzt haben, gaben wir einige Tropfen 0,1 n-Kaliumpermanganatlösung. Es trat eine weisse Fällung auf. Diese Reaktion ist nicht spezifisch für Zitronensäure, da sie auch mit Aepfelsäure positiv ausfallen kann.

d) Wir erwärmten eine kleine Probe der zu untersuchenden Kristalle mit konz. Schwefelsäure 10 Minuten auf dem Wasserbade. Die Lösung erhielt eine schwach gelbe Farbe. Nach dem Verdünnen mit Wasser machten wir die Lösung alkalisch und gaben Nitroprussidnatrium hinzu. Es entstand keine rubinrote Färbung, die auf die Anwesenheit von Zitronensäure hinweisen könnte.

e) 1 cm^3 einer Mischung von 3,5 cm^3 Pyridin und 1,5 cm^3 Essigsäureanhydrid wurden mit der Substanz im Wasserbade erwärmt. Es trat eine rote Färbung auf. Die Vergleichsreaktion mit Zitronensäure zeigte die gleiche Farbnuance.

f) Reaktion nach *Schmalfuss und Keitel:*[28])

Wir brachten ein Gemisch von $^1/_{10}$ mg Substanz und 2 mg Vanillin auf ein Uhrglas und setzten einen Mikrotropfen konz. Schwefelsäure hinzu. Hierauf legten wir das Uhrglas für 10 Minuten auf ein Becherglas mit kochendem Wasser. Nach ca. 3 Minuten wurde das Gemisch braunviolett. Nach 10 Minuten zeigte es, gegen das Licht gehalten, einen violetten Farbton. Nach dem Erkalten setzten wir 3 Mikrotropfen Wasser dazu, worauf sich die Farbe in Grün verwandelte. Nach Zusatz von 7 Tropfen Ammoniak entstand eine rostrote Färbung. Die Vergleichsreaktion mit Zitronensäure stimmte vollkommen mit der unsrigen überein.

5. Prüfung auf Aepfelsäure.

a) Reaktion nach *Denigès:*[29])

Die mit Essigsäure und Merkuriazetat versetzte Lösung gab zum Sieden erhitzt auf tropfenweisen Zusatz einer Lösung von Kaliumpermanganat keinen weissen Niederschlag.

b) Schwefelsäure-Resorcinreaktion nach *Klein:*[30])

Wir versetzten 3 Tropfen der wässerigen Lösung mit 2 cm^3 konz. Schwefelsäure und etwas Resorcin, kochten 5 Minuten auf dem Wasserbade, kühlten ab und gaben 10 cm^3 Wasser hinzu. Darauf kühlten wir das Gemisch wiederum ab und setzten tropfenweise Ammoniak hinzu. Bei Anwesenheit von Aepfelsäure sollte blaue Fluoreszenz auftreten. In unserem Falle fluoreszierte die Lösung grün, im gefilterten Ultraviolett besonders deutlich sichtbar.

6. Prüfung auf Weinsäure.

a) Wir erwärmten die Substanz mit konz. Schwefelsäure auf dem Wasserbade. Nach ca. 10 Minuten trat eine schwache Gelbfärbung auf. Auch nach längerem und stärkerem Erhitzen wurde die Lösung nicht dunkler gefärbt.

b) Die wässerige Lösung versetzten wir mit Kaliumazetat. Es entstand ein amorpher, weisser Niederschlag.

c) Wir erwärmten die wässerige Lösung mit ammoniakalischer Silbernitratlösung auf dem Wasserbade. Es bildete sich ein Silberspiegel.

d) Reaktion nach *Schmalfuss und Keitel:*[31])

1 Mikrotropfen konz. Schwefelsäure wurde mit einem Resorcinkristall von der Grösse eines halben Stecknadelknopfes ($^1/_{10}$ mg) auf dem Tiegeldeckel erhitzt bis das Resorcin den Tropfen rötlich gefärbt hat. Dann gaben wir ein Stäubchen der zu untersuchenden Säure hinein. Bei mässigem Erhitzen trat eine gelbrote Färbung auf. Die Vergleichsreaktion zeigte aber eine andere, für Weinsäure typische dunkelviolette Farbe.

Diese Reaktionen zeigen deutlich, dass es sich bei der untersuchten Substanz A um einen Stoff oder um ein Stoffgemisch handeln muss, das Aehnlichkeiten mit den bekannten Fruchtsäuren, Zitronensäure, Aepfelsäure und Weinsäure aufweist, aber doch nicht als eine solche identifiziert werden kann.

Denn obgleich die Farbreaktionen auf Zitronensäure und die Reaktion nach Denigès positiv ausgefallen sind, spricht die negative Reaktion nach Stahre gegen das Vorhandensein dieser Säure. Da auch die spezifische Calciumcitratfällung in der Hitze nicht beobachtet werden konnte, ist die Anwesenheit der Zitronensäure in der Fraktion A ausgeschlossen. Nach den negativen Ergebnissen der Prüfungen auf Aepfel- und Weinsäure müssen wir schliessen, dass auch diese beiden Säuren in der Fraktion A nicht vorkommen können.

Vergleichen wir diese vorläufigen Ergebnisse unserer Untersuchung mit den in der Einleitung erwähnten Arbeiten, so erkennen wir jetzt schon, dass wir zu andern Resultaten gelangen müssen als die meisten dort zitierten Autoren. Einzig mit den Angaben Griebels, die veröffentlicht wurden, als unsere Untersuchung bereits im Gange war, stimmen unsere Ergebnisse bis jetzt überein. Griebel bezeichnete die von uns als Fraktion A erhaltene Kristallmasse als Hibiscussäure. Wir werden uns der Einfachheit halber im weiteren Verlauf der Arbeit auch dieser Bezeichnung bedienen.

Bei der Untersuchung der Fraktion B_1, B_2 und B_3 haben wir die gleichen Reaktionen ausgeführt wie bei den Fraktionen A.

Die Prüfungen auf Zitronensäure und Weinsäure zeigten dieselben Ergebnisse, nach denen wir auch hier schliessen können, dass diese Säuren in der Fraktion B nicht anwesend sind, dass aber die Anwesenheit der Hibiscussäure auch in dieser Fraktion anzunehmen ist. Ausserdem gab die Resorcin-Schwefelsäurereaktion auf Aepfelsäure eine deutlich blaue Fluoreszenz. Ferner erzeugte in der mit Essigsäure und Mercuriazetat versetzten wässerigen Lösung ein Kaliumpermanganatzusatz in der Siedehitze einen weissen Niederschlag.

Nach den Resultaten dieser Untersuchungen können wir annehmen, dass die Fraktionen B aus Aepfelsäure und der noch zu untersuchenden, unbekannten Hibiscussäure bestehen.

c. Mikrosublimation.

Da sich das Hauptinteresse auf die Pflanzensäure der Droge richtete, wandten wir auch die Methode der Mikrosublimation zur Trennung der Pflanzensäuren an.

Diese Methode beruht auf der Beobachtung, dass verschiedene organische Substanzen, so wie sie sich in dem zu untersuchenden Pflanzenteil befinden, sublimiert werden können. Wir benutzten die

von Klein-Werner empfohlene Apparatur, die so gebaut ist, dass man die Sublimation im Vakuum durchführen kann. Wir haben die Untersuchung zuerst an dem unveränderten Drogenpulver durchgeführt. Um die Säuren zu erhalten, die in gebundener Form in der Droge vorhanden sein können, haben wir anschliessend die mit Phosphorpentoxyd angesäuerte Droge untersucht.

Untersuchung des Drogenpulvers.

Nach *Klein*[52]) soll aus einem Säuregemisch im Vakuum von 15 mm Druck bei 110° Oxalsäure, bei 130° Bernsteinsäure, bei 145° Aepfelsäure, bei 170° Zitronensäure und bei 190° Weinsäure sublimieren.

Unsere Untersuchung hat folgende Resultate ergeben:

Bei 110°: Kein Sublimat.

Bei 130°: Kein Sublimat.

Bei 145°: Zusammenhängender Rasen von Kristallen, deren Formen nicht erkennbar waren. An der Luft stehengelassen, gingen die Kristalle in eine zerfliessliche Masse über. Nach dem Trocknen im Schwefelsäure-Exsiccator bestimmten wir den Schmelzpunkt. Er lag zwischen 101° und 103° (corr.) was mit l-Aepfelsäure übereinstimmt.

Bei 170°: Dichter Belag von feinen Kristallnadeln, die stark sauer reagieren. Wir versetzten die Kristalle mit einem Tropfen einer 5%igen Silbernitratlösung und legten das Deckglas für 20 Minuten bei 40° in eine Ammoniakkammer. Das Silbersalz der Zitronensäure wäre an den gut ausgebildeten Kristallrosetten erkennbar. Solche für Zitronensäure typischen Formen konnten wir in unserer Probe nicht beobachten. Der Schmelzpunkt des Sublimates lag bei 154° (corr.).

Bei 190°: Kein Sublimat.

Nach den Ergebnissen dieser Sublimation können wir annehmen, dass sich Aepfelsäure als freie Säure in der Droge befindet. Das Sublimat, das wir bei 170° erhalten haben, gibt uns den Anhaltspunkt, dass noch eine Säure vorhanden sein muss, die aber mit Zitronensäure n i c h t identisch ist.

Untersuchung an der angesäuerten Droge.

Bei 110°: Feine Nadeln, die mit Strontiumnitrat in pyramidale Kristalle übergeführt werden konnten.
Der Schmelzpunkt des Sublimates lag bei 195° (corr.). Mischschmelzpunkt mit Oxalsäure: 195° (corr.).

Bei 130°: Kein Sublimat.

Bei 145°: Dieselben Kristallgebilde wie bei der Fraktion 145° der nicht angesäuerten Droge. Der Schmelzpunkt der an der Luft zerfliessenden und nachher im Exsiccator getrockneten Kristalle lag wiederum bei 101—103° (corr.). Aepfelsäure.

Bei 170°: Nadel- und stäbchenförmige Kristalle, die bei 154° (corr.) schmelzen. Auch dieses Sublimat konnten wir nicht in die für Zitronensäure typischen Silbercitratrosetten überführen.

Bei 190°: Kein Sublimat.

Aus der angesäuerten Droge haben wir Oxalsäure sublimiert, die in gebundener Form als Calciumsalz (nach den mikroskopischen Befunden Seite 13) in Karkade vorhanden ist. Daneben wieder Aepfelsäure und die unbekannte bei 154° (corr.) schmelzende Fraktion.

Da wir die Mikrosublimation nur als Vorprobe benutzt haben, sind wir auf die Untersuchung dieser unbekannten Sublimate nicht eingetreten.

2. Eigentliche Untersuchung.

Die Resultate der geschilderten Untersuchungen haben uns gezeigt, welchen Weg wir zur Identifizierung der Hauptinhaltsstoffe einschlagen müssen.

Wir benützen dasjenige Lösungsmittel, womit wir schon bei der Perkolation die grösste Ausbeute erhalten hatten. Die Droge wurde mit heissem 70 %igem Methylalkohol erschöpfend extrahiert. Die rote, sauer reagierende Lösung befreiten wir mit Kohle vom Farbstoff und engten das farblose Filtrat im Vakuum auf ein kleines Volumen ein. Aus dieser Lösung fällten wir in der Hitze mit Bleiazetat einen weissen voluminösen Niederschlag I. Das Filtrat versetzten wir mit Bleiessig bis zur alkalischen Reaktion und erhielten einen ebenfalls weissen Niederschlag II.

Um das Bleisalz der zu untersuchenden Säure (Hibiscussäure, siehe Seite 31) möglichst rein zu erhalten, wurde der Niederschlag I in heissem salpetersäurehaltigem Wasser (1 %) gelöst. Aus dem Filtrat kristallisierte nach dem Erkalten das Bleisalz (Bleihibiscat) in langen Nadeln aus.

Da nach den Vorproben der Niederschlag I weder in Spiritus noch in Essigsäure löslich sein kann, suspendierten wir das umkristallisierte Bleisalz in Wasser und leiteten zur Entfernung des Bleis Schwefelwasserstoffgas ein. Aus dem Filtrat wurde das überschüssige Gas mit Kohlendioxyd vertrieben. Nach dem Eindampfen der wässerigen, sauer reagierenden Lösung erhielten wir einen sirupartigen, gelblichen Rückstand, der im Exsiccator über Schwefelsäure nach einigen Tagen in der beschriebenen Weise fächerartig auskristallisierte.

Diese Kristallmasse zerkleinerten wir in einer Reibschale und trockneten sie erneut über Schwefelsäure. Wir wiederholten diesen Vorgang solange, bis die Kristalle in ein feines, wasserfreies, kristallinisches Pulver verwandelt waren.

Der Schmelzpunkt dieser wasserfreien Substanz lag bei 186° (corr.), stimmte also mit dem von *Griebel* für Hibiscussäure angegebenen Schmelzpunkt überein. Zur Reinigung unserer Säure lösten wir die im Exsiccator entwässerten Kristalle in wasserfreiem über Calciumchlorid destilliertem Aether. Die filtrierte ätherische Lösung engten wir ein, bis durch die wieder ausgeschiedene Säure eine leichte Trübung entstanden war. Durch vorsichtiges Zugeben einiger Tropfen Aether hoben wir diese Trübung gerade wieder auf.

Versetzten wir nun die Lösung tropfenweise mit Pentan, so entstand ein leichter Niederschlag, der sich aber beim Umschwenken wieder löste. Wir setzten solange Pentan zu, bis der letzte Tropfen eine bleibende schwache Trübung hervorgerufen hatte. Aus dieser so vorbereiteten Lösung schieden sich nach ca. 24 Stunden beim Stehen an freier Luft weisse Kristalle ab. Die Mutterlauge engten wir wiederum ein und erhielten auf die eben beschriebene Weise noch weitere, aber gelblich gefärbte Kristallfraktionen. Mit der ersten, weissen Fraktion wiederholten wir das Umkristallisieren. So erhielten wir reine wasserfreie Hibiscussäurekristalle, die wir nach 48stündigem Trocknen im Schwefelsäureexsiccator zur Schmelzpunktsbestimmung benützt haben.

Wir führten die Bestimmung in der von *Thiele* empfohlenen Apparatur aus, die aus einem Rohr mit seitlichem, henkelförmigem Ansatz besteht. Wir fanden für wasserfreie Hibiscussäure den Schmelzpunkt 190°—191,5°.

Mit dem Mikroschmelzpunktapparat gelangten wir zu dem korrigierten Schmelzpunkt 195°—196,5°, der mit dem Unkorrigierten übereinstimmt.

Griebel gibt in seiner Arbeit für die von ihm hergestellte Säure einen Schmelzpunkt von 181°—183° an. Die Differenz zwischen diesem und unserem Schmelzpunkt kann daher kommen, weil wir die Bestimmung mit der gereinigten, umkristallisierten Säure durchgeführt haben, während *Griebel* die über Schwefelsäure getrocknete Hibiscussäure dazu verwendet hat.

Um mit Sicherheit zu erkennen, ob es sich bei der mit Hibiscussäure bezeichneten Substanz um einen einheitlichen Stoff oder um ein Gemisch aus verschiedenen Säuren handelt, haben wir das Verfahren von *Schmidt*[15]) angewendet, das die Trennung der bekannten Fruchtsäuren ermöglicht.

Die wässerige Lösung der Substanz versetzten wir mit Kalkwasser bis zu alkalischer Reaktion. Es fiel ein amorpher Niederschlag

aus, der aus dem Calciumsalz der Oxal-, Wein- und Hibiscussäure bestehen konnte. Den abfiltrierten Niederschlag erwärmten wir mit verdünnter Essigsäure. Da sich der gesamte Niederschlag darin auflöste, konnten wir annehmen, dass Oxalsäure nicht vorhanden sei. Calciumoxalat wäre in Essigsäure unlöslich gewesen.

Die essigsaure Lösung versetzten wir mit Bleiazetat. Der entstandene Niederschlag wurde in wässeriger Aufschwemmung mit Schwefelwasserstoff entbleit. Die eingedampfte Lösung hinterliess den bekannten schwach gelbgefärbten, dickflüssigen Rückstand, der über Schwefelsäure zur Kristallisation gebracht wurde. Das Filtrat der Calciumfällung erhitzten wir zum Sieden. Da es auch in der Wärme vollständig klar blieb, war die Anwesenheit von Zitronensäure ebenfalls ausgeschlossen. Calciumcitrat wäre in heissem Wasser unlöslich.

Die klare, heisse Lösung wurde hierauf mit Bleiazetat versetzt. Es fiel kein Niederschlag aus. Aepfelsäure würde aus der Lösung als Bleisalz gefällt.

Die über das Calciumsalz erhaltene Kristallmasse kann also aus Hibiscussäure, aus Weinsäure oder aus einem Gemisch dieser beiden Säuren bestehen. Wir nahmen an, die zu untersuchende Substanz enthalte beide Säuren. Wir unterwarfen das Gemisch zur Trennung in die einzelnen Säuren der fraktionierten Mikrosublimation im Vakuum.

Wir benützten wiederum die Klein-Werner'sche Apparatur und erhielten bei 170° ein Sublimat, welches mit demjenigen übereinstimmte, das wir in den Vorproben bei derselben Temperatur erhalten hatten. Der Schmelzpunkt dieses Sublimates war wiederum bei 154° (corr.). Da bei 170° die Substanz vollständig sublimiert war, konnten wir annehmen, dass es sich bei den untersuchten Kristallen um einen einheitlichen Stoff handeln muss. Dass es nicht Weinsäure sein kann, zeigten auch die negativen bei der Untersuchung des Methylalkoholauszuges beschriebenen Reaktionen auf Weinsäure. Der Schmelzpunkt der gereinigten, umkristallisierten Kristalle lag bei 195—196,5°. Es handelt sich also nur um die sogenannte Hibiscussäure.

Zur Untersuchung des mit Bleiessig gefällten Niederschlages II benützten wir dasselbe Trennungsverfahren. Mit Kalkwasser erhielten wir wiederum einen Niederschlag, den wir mit Essigsäure vollständig in Lösung bringen konnten. Ueber das Bleisalz gelangten wir zu der bekannten, im Schwefelsäureexsiccator auskristallisierenden Säure, die wir ebenfalls als einheitlichen Stoff, als Hibiscussäure identifizieren konnten. Aus dem Filtrat der Calciumfällung konnten wir in der Hitze kein Calcium-Citrat erhalten. Dafür fiel nach Zusatz von Bleiazetat ein weisser Niederschlag aus, der uns nach dem Entbleien und Eindampfen einen dickflüssigen Rückstand lieferte. Im Schwefelsäureexsiccator erstarrte er rasch zu einer harten, durchsichtigen Masse, die selbst nach wochenlangem Stehen nicht in kristallinische Form überging.

Qualitative Reaktionen wiesen eindeutig auf Aepfelsäure hin.

Dass mit Bleiazetat die Hibiscussäure nicht quantitativ und die Aepfelsäure überhaupt nicht gefällt werden, kann folgendermassen erklärt werden. Die Bleisalze dieser Säuren sind zum Teil in Essigsäure löslich. Bei der Fällung der Säuren mit Bleiazetat wird Essigsäure frei. Diese löst einen Teil der Bleisalze, welche ins Filtrat übergehen, wo sie dann mit Bleiessig im alkalischen Medium ausgefällt werden.

Die Flüssigkeit III, das Filtrat der Bleiazetat- und Bleiessigfällung, haben wir auf die anorganischen Bestandteile hin untersucht. Wir entfernten das Blei wiederum mit Schwefelwasserstoff und dampften das Filtrat auf dem Wasserbade ein. Mit dem gelb gefärbten Rückstand haben wir verschiedene Reaktionen ausgeführt und folgende positive Ergebnisse bekommen:

1. Mit Silbernitrat: weisser Niederschlag von Silberchlorid, unlöslich in Salpetersäure, löslich in Ammoniak.
2. Mit Natriumkobaltinitrit: orange-gelber Niederschlag von Natriumkaliumkobalt (3) hexanitrit.
3. Flammenfärbung: Kaliumflamme, deutlich sichtbar durch Kobaltglas.

Als anorganischen Bestandteil haben wir also Kaliumchlorid nachgewiesen.

Um auch noch diejenigen Säuren zu isolieren, die in gebundener Form in der Droge vorhanden sind, benützten wir die mit heissem, 70 %igem Methylalkohol extrahierte Drogenmasse. Wir digerierten mit verdünnter, ca. 2 %iger Salzsäure und erhielten einen schwach rosa gefärbten Auszug, der in der Siedehitze mit Bleiazetat versetzt wurde. Nach dem Erkalten setzte sich ein weisser Niederschlag ab, der neben den Bleisalzen anwesender organischer Säuren noch Bleichlorid enthalten musste. Diesen Niederschlag kochten wir mit Wasser auf und filtrierten die siedend heisse Aufschwemmung. Dieser Vorgang wurde solange wiederholt, bis sämtliches Bleichlorid aus dem Niederschlag entfernt war. Als wir mit Silbernitrat im Waschwasser keinen Niederschlag mehr erhielten, rieben wir die so gereinigte Bleifällung mit Wasser an und entfernten aus der Suspension das Blei mit Schwefelwasserstoff. Die entbleite Lösung hinterliess nach dem Eindampfen einen gelb gefärbten kristallinischen Rückstand. Nach dem Kochen mit Kohle erhielten wir ein weisses sauer reagierendes Pulver. Nach dem Trennungsverfahren nach *Schmidt*[33]) entstand mit Kalkwasser in der Kälte ein weisser Niederschlag, der in Essigsäure unlöslich war. Es musste sich also um Oxalsäure handeln. Auch der Schmelzpunkt der wasserfreien Säure bei 195° (corr.) bestätigte diese Annahme. Ebenso der Mischschmelzpunkt mit reiner Oxalsäure. Als gebundenen Stoff haben wir aus der Droge somit Oxalsäure isolieren können.

Hibiscussäure.

Die Ergebnisse, die wir bei der Untersuchung der reinen, wasserfreien Hibiscussäure erhalten haben, stimmen im wesentlichen mit den Angaben *Griebels* überein.

Aus der Elementaranalyse der Säure mit dem Schmelzpunkt 197° (corr.) haben wir die nachstehenden Zahlen erhalten:

C = 37,90 %
H = 3,94 %
O = 58,16 % (aus der Differenz)

Das gibt für die Säure die kleinste Bruttoformel $C_6H_7O_7$.

Die Analyse des kristallwasserhaltigen Bleisalzes ergab die Werte:

Pb = 48,83 %
C = 17,31 %
H = 1,39 %
O = 32,47 % (aus der Differenz)

Da die Formel $C_6H_7O_7$ unmöglich ist, rechneten wir nach $C_6H_6O_7$ (Molekulargewicht 190,05) folgende Zahlen aus:

Für die freie Säure:

C = 37,89 %
H = 3,18 %
O = 58,93 % (aus der Differenz)

Für das Bleisalz Pb $C_6H_4O_7 + H_2O$:

Pb = 50,14 %
C = 17,42 %
H = 1,46 %
O = 30,98 % (aus der Differenz)

Griebel gibt nach seinen Berechnungen für Hibiscussäure ebenfalls die Bruttoformel $C_6H_6O_7$ an.

Um zum Aequivalentgewicht zu gelangen, haben wir die Säure mit 0,1 n - Natronlauge in der Kälte gegen Phenolphthalein titriert. 101,4 mg Substanz verbrauchten 10,75 cm^3 0,1 n - Lauge. Das Aequivalentgewicht beträgt demnach 94,4.

Darstellung des Dimethylesters der Hibiscussäure.

Zur Kontrolle der gefundenen und berechneten Werte versuchten wir eine gut kristallisierte Verbindung herzustellen, die wir zur Elementaranalyse und Molekulargewichtsbestimmung verwenden konnten.

Wir lösten die reine Hibiscussäure in wasserfreiem Aether und versetzten die Lösung mit Diazomethan. Nach dem Einengen im Vakuum kristallisierte der Ester in weissen Kristallnadeln aus (Smp. 124—126° corr.). Zur Reinigung wurde aus Aether und Pentan um-

kristallisiert. Hierauf unterwarfen wir die Substanz der Sublimation im Hochvakuum (Temp. bis 115 °). Das Sublimat wurde nochmals aus Aether-Pentan umkristallisiert. Der Schmelzpunkt des so gereinigten Esters lag bei 129—131 ° (corr.).

Wir nahmen an, dass es sich um den Dimethylester der Hibiscussäure $C_6H_6O_7$ handeln musste mit der Bruttoformel $C_8H_{10}O_7$.

Mit dieser Verbindung haben wir folgende Analysen ausführen lassen und nachstehende Zahlen erhalten:

1. Elementaranalyse:

3,949 mg Substanz gaben 6,302 mg CO_2 und 1,542 mg H_2O
gefunden C = 43,55 %, H = 4,37 %
berechnet nach der Formel $C_8H_{10}O_7$
C = 44,04 %, H = 4,62 %.

2. Methoxylbestimmung:

Für 2,721 mg Substanz wurden 7,884 cm³ $Na_2S_2O_3$ verbraucht.
gefunden: $-OCH_3$ 29,96 %, berechnet: 28,45 %.

3. Verseifungszahl:

10,718 mg Substanz wurden mit 1,5 cm³ 1/10 n - alkoholischer K OH 15 Stunden gekocht. Zurücktitriert mit 1/10 n - H_2SO_4 · 1,234 cm³ 1/10 n - K OH wurden verbraucht.

Aequivalentgewicht: gefunden 86,9
berechnet 72,7.

4. Molekulargewichtsbestimmung.

Einwage:	0,713 mg Substanz
Campher:	11,480 mg vom Smp. 177,8 ° und molekularer Depression von 37,6 °
Depression:	10,6 °
Molekulargewicht:	gefunden 220,3 berechnet 218,16.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung H. Gubser) ausgeführt.

Wir titrierten die Säure mit 0,1 n - Natronlauge in der Kälte mit Phenolphthalein als Indikator. Nach dem Zusatz einer genau abgemessenen Menge 0,1 n - Lauge erwärmten wir auf dem Wasserbade 10 Minuten lang. Beim Zurücktitrieren mit Säure erhielten wir eine Differenz, das heisst, die Hibiscussäure verbrauchte in der Wärme nochmals 0,1 n - Lauge, und zwar ungefähr die Hälfte der in der Kälte gebundenen cm³ Natronlauge.

101,4 mg Substanz verbrauchten 10,75 cm^3 0,1 n - Lauge. Wir setzten 15,00 cm^3 0,1 n - Lauge zu und erwärmten auf dem Wasserbade. Nach dem Zurücktitrieren mit 0,1 n - Salzsäure konstatierten wir einen Verbrauch von nochmals 5,43 cm^3 0,1 n - Lauge.

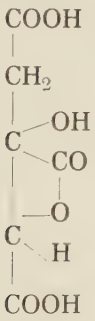
Es handelt sich also bei der Hibiscussäure um eine zweibasische Säure mit einem laktonartigen Ring, der in der Wärme von der Lauge aufgespalten wird.

Da sich unsere Bestimmungen mit denen Griebels decken, geben wir die von ihm aufgestellte, mögliche Konstitutionsformel an. Die Hibiscussäure hat, wie erwähnt, grosse Aehnlichkeit mit den bekannten Fruchtsäuren. Verschiedene Autoren haben sie mit Zitronensäure verwechselt, da die Hibiscussäure einige Reaktionen, hauptsächlich Farbreaktionen, gleich gibt wie diese Säure.

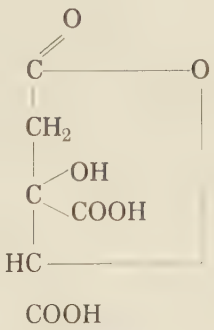
Deshalb liegt der Gedanke nahe, dass auch eine der Zitronensäure ähnliche Konstitution vorliegt. Griebel nimmt an, dass es sich um ein Lakton der Oxyzitronensäure handle, welches untenstehende Formel I aufweist.

Wenn es sich wirklich um ein Lakton der Oxyzitronensäure handelt, so ist Formel II viel wahrscheinlicher.

I



II



Bestimmung der optischen Drehung von Hibiscussäure.

Wir bestimmten die optische Drehung der Hibiscussäure in einem Mikropolarimeter, der eine Ablesung von 0,01 ° gestattet.

Die spezifische Drehung haben wir nach folgender Formel berechnet:

$$[\alpha]\ D^{20^0} = + \frac{a \cdot 100}{l \cdot c}$$

a = abgelesener Drehungswinkel.

l = Länge des Beobachtungsrohres in dm.

c = Anzahl Gramme optisch-aktiver Substanz in 100 cm^3 Lösung.

Aus acht Ablesungen haben wir den mittleren Drehungswinkel von 1,06° erhalten bei einer Konzentration: c = 1,0144 in Wasser. Nach obiger Formel berechneten wir den Mittelwert für die spezifische Drehung:

$$[\alpha]\ D^{20^0} = + 104{,}5^0$$

Quantitative Bestimmung der Hibiscussäure.

Den Hibiscussäuregehalt der Droge haben wir nach der gravimetrischen Methode bestimmt. Da wir die freie Säure über das Bleisalz aus der Droge isoliert haben, können wir den gefundenen Wert nur als annähernd richtig annehmen, trotzdem wir uns bemüht haben, die Bestimmung so genau wie möglich durchzuführen.

50,0 g getrocknete Droge extrahierten wir mit 60 %igem Spiritus bis zur vollständigen Erschöpfung des Pulvers. Der mit Bleiazetat in der Hitze gefällte Niederschlag I wurde zuerst mit wenig Bleiazetat und darauf mit Wasser sorgfältig ausgewaschen. Das Filtrat versetzten wir mit Bleiessig und erhielten einen Niederschlag II, der aus den Bleisalzen der Hibiscus- und Aepfelsäure besteht.

Aus dem Bleihibiscatniederschlag I entfernten wir mit Schwefelwasserstoff das Blei und gelangten nach dem Eindampfen der Lösung zur kristallwasserhaltigen Hibiscussäure. Nach dem Entbleien des Niederschlages II erhielten wir wieder den sirupösen Rückstand aus Hibiscus- und Aepfelsäure. Die aus beiden Fraktionen erhaltenen Bleisulfidniederschläge haben wir zur weiteren Verarbeitung beiseite gestellt.

Die mit Bleiazetat isolierte Hibiscussäure reinigten wir mit Kohle und erhielten auf diese Weise die weisse, fächerförmig kristallisierende Säure, die im Schwefelsäureexsiccator nach mehrmaligem Verreiben in die wasserfreie Form übergeführt werden konnte.

Das Säuregemisch aus der Bleiessigfällung trennten wir nach dem Verfahren von *Schmidt*[33]) mit Kalkwasser. Das gefällte Calciumhibiscat lösten wir in Essigsäure, versetzten mit Bleiazetat und gelangten nach dem Entbleien und Eindampfen zur freien Säure, die wir ebenfalls durch Verreiben und Trocknen im Schwefelsäureexsiccator in die wasserfreie Form überführten. Aus dem Filtrat des Calciumniederschlages fällten wir das Bleisalz der Aepfelsäure. Die freie Säure konnte auch nach wochenlangem Stehen im Exsiccator nicht zur Kristallisation gebracht werden.

Da wir damit rechnen mussten, dass die Bleisulfidniederschläge, die wir beim Entbleien mit Schwefelwasserstoff erhielten, beim Ausfallen organische Stoffe mitgerissen haben, wurde jeder Niederschlag für sich auf folgende Weise untersucht:

Wir kochten das gefällte Bleisulfid zuerst mit Wasser und darauf mit Spiritus auf. Den so behandelten Niederschlag erwärmten wir mit verdünnter Ammoniaklösung auf dem Wasserbade. Jede Flüssigkeit wurde für sich abfiltriert und eingedampft. Es blieb bei keinem Lösungsmittel ein Rückstand. Das Bleisulfid wurde darauf mit Perhydrol zu Bleisulfat oxydiert, das wir wieder mit Wasser und Spiritus auskochten. Auch aus diesem Filtrat erhielten wir nach dem Eindampfen keinen Rückstand. Da wir bei allen Bleisulfidniederschlägen dieselben negativen Resultate erhalten hatten, konnten wir annehmen, dass wir die organischen Säuren quantitativ aus den Bleiniederschlägen frei gemacht hatten.

Auf gravimetrischem Wege haben wir aus der Bleiazetat- und Bleiessigfällung 11,0 g Hibiscussäure bekommen. Die Droge enthält demnach ca. 22 % Hibiscussäure, bezogen auf lufttrockene Ware. Das Gewicht der nicht kristallinischen Fraktion, welche aus Aepfelsäure bestehen muss, betrug 1,5 g = 3 %.

Gesamtsäuregehalt der Droge.

10,0 g Droge haben wir mit heissem, 60 %igem Spiritus erschöpfend extrahiert. Dieser Auszug wurde im Masskolben auf 1000 cm^3 verdünnt. Aus dieser Lösung haben wir titrimetrisch den Gesamtsäuregehalt der Droge bestimmt, berechnet auf Hibiscussäure.

Für die Titrationen haben wir verschiedene Indikatoren verwendet. Wir benützten den roten Farbstoff der Droge, der in alkalischem Medium in grün übergeht, und titrierten die Lösung mit 0,1 n-Natronlauge bis zum Farbumschlag. Bei einer weiteren Titration bestimmten wir den Neutralpunkt mit der Tüpfelmethode auf Lackmuspapier. Die Mittelwerte dieser beiden Bestimmungen stimmten ziemlich genau überein.

Da aber weder mit dem roten Farbstoff, noch mit Lackmus ein ganz scharfer Umschlagspunkt zu erkennen war, titrierten wir die Lösung noch mit Fluoreszenzindikatoren im ultravioletten Licht. Mit Methylumbelliferon und β-Naphthol in 0,1 %iger Lösung erhielten wir übereinstimmende Werte.

1. Probe:

Indikator: Eigenfarbstoff der Droge.
50 cm^3 des 1 %igen Drogenauszuges verbrauchten
15,0 cm^3 0,1 n-Natronlauge.

2. Probe:

Indikator: Lackmus.
50 cm^3 des 1 %igen Drogenauszuges verbrauchten
14,5 cm^3 0,1 n-Natronlauge.

3. Probe:

Indikator: Methylumbelliferon.
Im gefilterten Ultraviolett titriert.
50 cm^3 des 1 %igen Drogenauszuges verbrauchten
15,2 cm^3 0,1 n-Natronlauge.

4. Probe:

Indikator: β-Naphthol.
Im gefilterten Ultraviolett titriert.
50 cm^3 des 1 %igen Drogenauszuges verbrauchten
15,1 cm^3 0,1 n-Natronlauge.

Nach diesen Titrationen ist der Gesamtsäuregehalt als Hibiscussäure berechnet 28,5 %. (Molekulargewicht 190,05.)

Untersuchung auf Kohlehydrate.

Mit dem Filtrat der Bleiazetat- und Bleiessigfällung des Alkohol- und des Methylalkohol(70 %)auszuges haben wir positive Reaktionen erhalten, die uns die Anwesenheit von Kohlehydraten mit Sicherheit bestätigen. Da die Arbeitsweise der Bleifällungsmethode und auch die saure Reaktion der Auszüge störende Einflüsse auf die ursprüngliche Konstitution dieser Stoffe ausüben konnte, hielten wir es für angebracht, die Untersuchung dieser Zuckerarten an einem in möglichst schonender Weise gewonnenen Drogenauszug vorzunehmen, der die Kohlehydrate in derjenigen Form enthält, in der sie in der Droge vorkommen.

Wir vermischten 20,0 g Droge mit 30,0 g Calciumcarbonat und extrahierten dieses Gemisch erschöpfend mit kaltem 60 %igem Methylalkohol. Die entstandenen Calciumsalze der organischen Säuren wurden vom Methylalkohol nicht oder nur zu einem geringen Teil gelöst. Auf alle Fälle war die störende saure Reaktion des Extraktes auf diese Weise ausgeschaltet. Die rote Lösung entfärbten wir ohne zu erhitzen mit Kohle. Aus dem farblosen Filtrat erhielten wir durch Eindampfen im Vakuum einen trockenen, gelblich gefärbten Rückstand. Um daraus das sich eventuell gelöste Calciumhibiscat und Calciummalat zu entfernen, nahmen wir den Extrakt mit Wasser auf und versetzten die Lösung in der Kälte mit Bleiazetat. Es fiel ein weisser Niederschlag aus, den wir zum Auswaschen mehrmals in Wasser suspendierten. Im Filtrate konnten wir mit Bleiessig keine Fällung mehr erzeugen. Nach dem Entbleien und Eindampfen des Filtrates blieb ein gelb gefärbter Sirup zurück, der nach einigen Tagen im Schwefelsäureexsiccator zu einer zähen Masse erstarrte. Das Gewicht des Rückstandes betrug 5,0 g.

Die mit diesem zähen Sirup ausgeführten Reaktionen zeigten folgende Resultate:

1. Wir versetzten die wässerige Lösung mit Fehling'schem Reagens. Erst nach längerem Erhitzen konnten wir einen schwachen Niederschlag von gelbrotem Cuprooxyd feststellen.
2. Die mit verdünnter Salzsäure erhitzte Siruplösung gab mit dem Fehling'schen Reagens in der Hitze sofort einen starken Niederschlag von Cuprooxyd.
3. Wir erhitzten einen Teil der sirupösen Masse auf dem Wasserbade mit einem Gemisch aus gleichen Teilen rauchender Salzsäure und wässeriger Resorcinlösung. Es entstand eine Rotfärbung. Die Reaktion verlief genau in derselben Zeit wie die Vergleichsreaktion mit Fruktose.
4. Mit *Fischers* Phenylhydrazinlösung[34]) haben wir zwei Untersuchungen ausgeführt:
   a) mit dem Sirup, so wie wir ihn aus dem Extrakt erhalten haben. Es bildete sich kein Osazon.
   b) mit dem durch verd. Salzsäure hydrolysierten Sirup. Es bildeten sich gelbe Kristalle von Glykosephenylosazon. Durch Umkristallisieren aus 30 %igem Spiritus erhielten wir das Osazon in reinerer Form. Nach dem Auswaschen mit 90 %igem Spiritus und Aceton bestimmten wir den Schmelzpunkt. Wir fanden ihn bei 208°, was mit dem Schmelzpunkt von Glykosephenylosazon übereinstimmt.

Nach diesen Reaktionen kann es sich bei dem untersuchten Sirup um ein Kohlehydrat oder um die Zuckerkomponente eines Glykosides handeln.

Um die Anwesenheit eines Glykosides zu erkennen, lösten wir einen kleinen Teil des Sirups in Wasser und versetzten die Lösung mit verd. Schwefelsäure R. Darauf erwärmten wir eine Stunde lang auf dem Wasserbade. Die erkaltete Lösung wurde in einen Scheidetrichter filtriert und mit Chloroform mehrmals ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge dampften wir auf dem Wasserbade ein. Es blieb kein Rückstand zurück. Die Anwesenheit eines Glykosides ist deshalb ausgeschaltet. Sonst wäre das Aglukon beim Ausschütteln mit Chloroform in Lösung gegangen.

Es handelt sich somit bei dem untersuchten Stoff um ein Kohlehydrat. Die ausgeführten Reaktionen weisen eindeutig auf Rohrzucker hin.

Um einen Anhaltspunkt zu bekommen, wieviel Rohrzucker die Droge enthält, haben wir eine quantitative Untersuchung vorgenommen. Dazu muss allerdings gesagt werden, dass die Bestimmung keinen ganz genauen Wert liefern konnte. Schon bei der quantitativen Isolierung des Zuckers aus der Droge musste mit Fehlern gerechnet werden, die durch die Arbeitsmethode bedingt waren.

Für diese Zuckerbestimmung haben wir den *Lohnstein'schen* Gärungssaccharimeter[35]) verwendet. Wir berechneten aus den gefundenen Zahlen für die Droge einen Gehalt von 3 % Rohrzucker.

IV. Schlussbetrachtung.

In der vorliegenden Arbeit werden wir mit einer Droge bekannt gemacht, die bei uns unter dem Namen „Karkade“ oder „Karkade-Tee“ in den Handel gebracht wird.

In der Einleitung erfahren wir Näheres über die verschiedenartigen Bezeichnungen der Droge, über ihre Stammpflanze und Herkunft. Ferner werden die früher verfassten Arbeiten mehrerer Autoren über die Inhaltsstoffe der Hibiscuskelche aufgeführt.

In einem botanischen Teile werden die morphologischen und anatomischen Merkmale von Karkade ausführlich beschrieben. Die Resultate unserer Untersuchungen stimmen mit den Angaben der zitierten Autoren überein.

Der Hauptteil der Arbeit, der chemische Teil, befasst sich mit der Untersuchung der wichtigsten Inhaltsstoffe. Die Voruntersuchungen geben uns Aufschluss über die sogenannten „äusserlichen“ Kennzahlen der Droge: über den Trockenrückstand, den Aschengehalt und den Extraktgehalt (bestimmt aus verschiedenen Lösungsmitteln). Die Analyse der Asche bestätigt uns die Anwesenheit folgender Jonen: Na, K, Ca, Mg, Al, Fe, Mn, Sulfat, Phosphat, Chlorid und Carbonat.

Neben Rohrzucker, Aepfelsäure und Oxalsäure (in gebundener Form als Calciumoxalat) besitzt Karkade als Hauptinhaltsstoff eine gut kristallisierbare Säure, die dem wässerigen Drogenauszug zusammen mit Aepfelsäure den erfrischenden, stark sauren Geschmack verleiht. Die isolierte, wasserfreie Säure hat den Schmelzpunkt 197° (corr.). Das Bleisalz und der Dimethylester, beides gut kristallisierbare Verbindungen, geben anhand der Elementaranalyse Aufschluss über die Konstitution der freien Säure. Die Untersuchungen zeigen, dass es sich mit grosser Wahrscheinlichkeit um eine Dicarbonsäure mit Laktonring handeln muss. Unsere Ergebnisse decken sich mit den Angaben Griebels[19]), der diese Säure nach der Stammpflanze der Droge Hibiscussäure nennt. Die Hibiscussäure besitzt die Formel $C_6H_6O_7$ und das Molekulargewicht 190,05.

V. Literaturangaben.

[1]) *Diepenbrock*, Angew. Botanik, 10, 51 (1928).
[2]) *Griebel*, Zeitschrift für Untersuchungen der Lebensmittel, 1939, I, pg. 561.
[3]) *v. Hovorka-Kronfeld*, Vergleichende Volksmedizin.
[4]) *Brunner*, Jahresbericht des Hamburg. Institutes für Bearbeitungen von Blütendrogen, 55. Jahrgang 1938, pg. 23.
[5]) *Dragendorff*, die Heilpflanzen, 1898, pg. 425.
[6]) *Ettling*, die Rosellapflanze, ihr Anbau und ihre Verwertung, der Tropenpflanzer, 1926, pg. 2.
[7]) *Leupin*, Pharmazeutica Acta Helvetica 1935, No. 9.
[8]) *Wartburg*, die Pflanzenwelt, 2, 399.
[9]) *Rosenthal*, Synopsis Plantarum diaphoricarum, pg. 710.
[10]) *Hegi*, Flora von Mitteleuropa.
[11]) *Dragendorff*, die Heilpflanzen, pg. 425.
[12]) *Wiesner*, die Rohstoffe des Pflanzenreiches, 1927, pg. 1745.
[13]) *Hegi*, Illustr. Flora von Mitteleuropa, Bd. V, 1. Teil, pg. 460.
[14]) *Perkin Arthur George*, C. C. 1910, I. 288.
[15]) *Ryo Yamamoto und Yasnyosi Osima*, C. C. I. 71, 1933.
[16]) *Pritzker u. Jungkunz*, Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene, 1937 Bd.-Vol. XXVIII, Heft 1/2.
[17]) *Buogo Giulio u. Picchinenna Domenico*, Questi annali 27, 577 (1937).
[18]) *Renato Indovina u. Giuseppe Captummino*, C. C. 1939, I, pg. 2823.
[19]) *Griebel*, Zeitschrift für Untersuchungen der Lebensmittel, 1939, I, pg. 563.
[20]) *Giovanni Lorenzini*, Arch. Ist. ital. 9, 123 (1937), Chem. Zbl. 1938 II, 2289.
[21]) *Leupin*, Pharmazeutica Acta Helvetica, 1935, No. 9.
[22]) *Diepenbrock*, Angew. Botanik 10, 51 (1928).
[23]) *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. I allgemeine Methoden der Pflanzenanalyse.
[24]) *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse Bd. I, pg. 559.
[25]) *Treadwell*, Tabellen zur qualitativen Analyse, pg. 20.
[26]) *Fichter Fr.*, Anleitung zum Studium der chemischen Reaktionen und der qualitativen Analyse.
[27]) *Grün A.*, Analyse der Fette und Wachse, I. Bd. pg. 260.
[28]) *Schmalfuss H. u. Keitel K.*, Zeitschrift für physiologische Chemie, 138, 156 (1924).
[29]) *Denigès*, Cpt. rend. 130, 32, nach Jahresbericht der Pharmazie, 241, 479 (1903).
[30]) *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. II, pg. 441.
[31]) *Schmalfuss H. u. Keitel K.*, Zeitschrift für physiologische Chemie, 138, 156 (1924).
[32]) *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. I, pg. 327.
[33]) *Schmidt*, ausführliches Lehrbuch der Pharmazeut. Chemie (Braunschweig 1910) Bd. II. 1. Abt. 619.
[34]) *Rosenthaler*, der Nachweis der organischen Verbindungen, 1923, pg. 937.
[35]) *van der Haar*, Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren, pg. 107.

Inhalts-Verzeichnis.

Seite

I. Einleitung 5

II. Botanischer Teil 12

III. Chemischer Teil 16

A. Voruntersuchungen:

1. Bestimmung des Trockenrückstandes . . . 16
2. Bestimmung des Aschengehaltes 18
3. Analyse der Asche 18
4. Bestimmung des Extraktgehaltes der Droge mit verschiedenen Lösungsmitteln 20

B. Hauptuntersuchung:

1. Vorproben:
   a. Wasserdampfdestillation 21
   b. Herstellung und Prüfung von Extrakten aus verschiedenen Lösungsmitteln 22
   c. Mikrosublimation 31
2. Eigentliche Untersuchung 33
   Hibiscussäure 37
   Bestimmung der optischen Drehung der Hibiscussäure . 39
   Quantitative Bestimmung der Hibiscussäure . . 40
   Untersuchung auf Kohlehydrate 42

IV. Schlussbetrachtung 44

V. Literatur-Angaben 45

Curriculum vitae.

Am 2. Dezember 1914 wurde ich, Gottfried Rudolf Brand aus Basel, als Sohn des Seifenfabrikanten Rudolf Brand (gest. 1929) und seiner Gattin Elisabeth, geb. Riedtmann, in Basel geboren.

Ich durchlief die Primarschule und das humanistische Gymnasium in Basel, wo ich im Frühjahr 1933 die Maturität bestand. Meine Studien- und Praktikantenzeit verbrachte ich ebenfalls in Basel. Nach der naturwissenschaftlichen Vorprüfung für Apotheker trat ich im Frühjahr 1935 als Praktikant in die Sundgau-Apotheke in Basel ein. Im Herbst 1936 bestand ich das Assistentenexamen und war darauf ein Jahr lang als Assistent in der Goldenen Apotheke in Basel tätig. Am Pharmazeutischen Institut der Universität Basel schloss ich im Frühjahr 1939 die Fachsemester mit dem eidg. Staatsexamen für Apotheker ab.

Unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Leupin begann ich im Sommersemester 1939 die vorliegende Arbeit, die im Herbst 1941 zum Abschluss gebracht wurde.

Seit Februar 1941 war ich als zweiter Assistent am Pharmazeutischen Institut bei Herrn Prof. Dr. K. Leupin tätig.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und Kurse der Herren Professoren und Dozenten:

Doerr, Fichter, Häfliger, Hagenbach, Jezler, Leupin, Reichstein, Schüepp, Senn, Viollier, Vischer, Zörnig.